

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر-

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE – ALGER-

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTÈRE EN MEDECINE VÉTÉRINAIRE

Option : MICROBIOLOGIE MEDICALE VETERINAIRE

Thème :

**Susceptibilité antimicrobienne et production de beta-lactamase
de souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les cas de
mammite cliniques et subcliniques**

Présenté Par :

Dr. MERABET MOHAMED AMINE RAMDANE

Jury :

Président : Pr. Boukhorse K.T ENSV

Promoteur : Pr. Belattar N Université Ferhat Abbas -Sétif

Examineurs : Pr. Khelef D ENSV

Dr. Hamdi T.M Maitre de conférence Classe A ENSV

Dr. Ait Oudhia K. Maitre de conférences Classe A ENSV

REMERCIEMENTS

A *Mademoiselle le Professeur BOUKHORS Karima Thamina*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A *Monsieur le Professeur BELATTAR Noureddine*

Professeur de l'université Ferhat Abbas -Sétif –

Pour m'avoir encadré tout au long de cette thèse, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa bonne humeur constante,

Qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements et de mon profond respect.

A

Monsieur le Professeur KHELEF Djamel,

Monsieur Hamdi Taha Mossadek Maitre de conférences – Classe A

Mademoiselle Ait Oudhia Khatima

Qui nous ont fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury de thèse,
Qu'ils soient remerciés pour le temps consacré à lire et à juger ce travail.

A tous les membres de l'équipe « Bactériologie Médicale » du CHU de Sétif qui ont contribué à la réalisation de ce travail : Pr. Sahli F et DR. Bencherif L.

Sincères remerciements.

A

Tous les vétérinaires et tous les éleveurs qui ont bien voulu participer à notre travail,

Pour leur disponibilité et leur patience,

Sincères remerciements.

A

Tous mes confreres de la poste graduation

Dédicaces

A mes parents, mes tantes et ma sœur :

Pour leur générosité, leur infaillible soutien et surtout leur affection,
Merci infiniment.

A ma femme :

Pour avoir cru en moi,
Pour avoir supporté les moments difficiles,
Jamais tu n'as douté de mes choix

Un seul merci même infini ne suffit pas, je vous dédie cette thèse.

A la petite perle : AYA

Pour la joie et le bonheur qu'elle nous porte chaque jour,

Merci d'être parmi nous.

TABLE DES MATIERES

Table des illustrations

Liste des abréviations

Introduction 01

REVUE DE LA LITTERATURE.....03

1. ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE..... 04

1.1 Le parenchyme sécrétoire 05

1.2 Le trayon 06

2. L'immunologie de la Mamelle et du Trayon 07

3. La mammite bovine..... 08

3.1 Étiologie..... 09

3.2 Classification..... 09

4. La Mammite bovine a *Staphylococcus Aureus* 10

4.1 Taxonomie..... 10

4.2 Morphologie cellulaire et caractères cultureux 10

4.3 Épidémiologie et caractéristiques 11

4.3.1 Prévalence 11

4.3.2 Réservoirs et transmission 12

4.4 La pathogénie des mammites à *S. aureus* 14

4.4.1 L'adhésion du pathogène 14

4.4.2 Invasion des cellules épithéliales mammaires bovines 15

4.4.3 L'évasion du système immunitaire..... 17

4.4.4 L'interaction entre le *Staphylococcus aureus* et le
système immunitaire bovin 21

4.4.5 Conséquences de l'invasion de cellules non-phagocytaires
par le pathogène 23

4.4.5.1 Survie et prolifération intracellulaire..... 23

4.4.5.2 L'apoptose des cellules infectées..... 23

4.4.5.3 Formation des variants « petites colonies » 23

4.5 Régulation des facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.6 Manifestations cliniques	25
4.6.1 La mammite aiguë à <i>S. aureus</i>	25
4.6.2 La mammite suraiguë.....	25
4.6.3 La mammite gangréneuse	26
4.6.4 La mammite chronique à <i>S.aureus</i>	26
4.7 Diagnostic	26
4.7.1 Le choix d'échantillonnage et le volume d'inoculum	27
4.7.1.1 Le choix d'échantillonnage et les CCSs.....	27
4.7.1.2 L'élimination du <i>S.aureus</i>	27
4.7.1.3 Le volume de l'inoculum	27
4.7.1.4 Le moment du prélèvement	27
4.7.1.5 Les échantillons composites	28
4.7.2 Méthodes pour augmenter la précision du diagnostic :	28
4.7.3 Méthodes de diagnostic bactériologiques (classique)	28
4.7.4 Le typage des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> bovine	29
4.7.4.1 Les méthodes phénotypiques	29
4.7.4.1.1 L'antibiogramme	29
4.7.4.1.2 Le bio typage	29
4.7.4.1.3 La lysotypie.....	29
4.7.4.1.4 Multi-locus Enzyme Electrophoresis (MLEE).....	29
4.7.4.2 Les méthodes génotypiques :	30
4.7.4.2.1 Multilocus sequence typing (MLST)	30
4.7.4.2.2 L'électrophorèse en champ pulse (PFGE)	30
4.8 Traitement, control et prévention	31
4.8.1 Les facteurs affectant le succès thérapeutique	31
4.8.1.1 Les facteurs liés à l'hôte	31
4.8.1.2 Les facteurs liés aux pathogènes.....	31
4.8.1.2.1 La résistance du pathogène aux β - lactamines.....	32
4.8.1.2.2 Le traitement spécifique des souches	33
4.8.1.3 Les facteurs liés aux traitements	33

4.8.1.3.1	Les antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites.....	33
4.8.1.3.2	Traitement combinés.....	34
4.8.1.3.3	La durée du traitement.....	34
4.8.1.3.4	La voie d'administration.....	34
4.8.1.3.5	Traitement pré partum des génisses.....	35
4.8.1.3.6	Les Traitements alternatifs	35
4.8.2	Le control des mammites à <i>S.aureus</i>	36
4.8.2.1	L'isolement et l'élimination des réservoirs	36
4.8.2.1.1	La ségrégation.....	36
4.8.2.1.2	L'abattage	38
4.8.2.2	L'interruption des voies de contamination	38
4.8.2.2.1	L'hygiène de la traite	38
4.8.2.2.2	La surveillance de l'état des trayons.....	38
4.8.2.2.3	La désinfection des trayons	38
4.8.2.2.4	Maîtrise des contaminations hors traite.....	39
4.8.2.3	La vaccination	39
	ETUDE EXPERIMENTALE	42
1.	Matériel et méthodes	43
1.1	Description de la zone d'étude	43
1.2	Exploitations et animaux	43
1.3	enquête épidémiologique	45
1.3.1	Bâtiments d'élevage	45
1.3.2	Conduite et hygiène de la traite	47
1.3.2.1	L'organisation et la préparation de la traite	47
1.3.2.2	Techniques de traite	50
1.3.3	Traitement et surveillance	52
1.3.4	Étude de la réalisation pratique du tarissement	54
1.4	Prélèvements	54
1.5	Dépistage des mammites subcliniques	55

1.6 Analyses microbiologiques.....	57
1.6.1 Isolement et identification des souches de <i>S.aureus</i>	57
1.6.2 Test de production de β -Lactamase	60
1.6.3 Test de sensibilité aux agents antimicrobiens	61
1.6.3.1 Méthode de diffusion de disque : antibiogramme standard	61
1.6.3.2 La méthode E test	61
1.6.3.3 Recherche de la résistance de <i>S. aureus</i> à l'oxacilline	62
1.6.4 Tests Statistiques	62
2. Résultats et discussion	64
2.1 Enquête épidémiologique.....	64
2.2 Test CMT	65
2.2.1 Prévalence de mammite subclinique en fonction du rang de lactation et du niveau de production.....	69
2.2.2 Prévalence de mammite subclinique en fonction du stade de lactation.....	69
2.3 Analyses bactériologiques.....	70
2.3.1 Résultats globaux	70
2.3.1.1 Mammites subcliniques	71
2.3.1.2 Mammites cliniques	72
2.3.1.3 Isolats de <i>S. aureus</i>	74
2.3.1.3.1 Caractérisation phénotypique	76
2.3.1.3.2 Susceptibilité antimicrobienne.....	79
2.3.1.3.2.1 Résistance au β -lactamines	84
2.3.1.3.2.2 Résistances aux autres agents antimicrobiens	87
2.3.1.3.2.3 Résistance à l'Oxacilline	88
Conclusion	89
Recommandations	91
Références	92

Annexes

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures :

Figure 01 :	Coupe transversale au niveau des quartiers abdominaux, segment crâniale (d'après Pavaux, 1982)	04
Figure 02 :	Conformation générale du pis (d'après Pavaux, 1982)	05
Figure 03 :	Les différentes structures internes de la mamelle (d'après Rémy, 2010)	05
Figure 04 :	Les différentes structures du canal du trayon (d'après Rémy, 2010)	06
Figure 05 :	<i>S.aureus</i> coloration de Gram (x1000) (Hart et Shears, 1997)	10
Figure 06 :	Colonies de <i>S.aureus</i> sur gélose au sang (Hart et Shears, 1997)	11
Figure 07 :	Les étapes de formation du Biofilm (adapter d'après Melchior <i>et al.</i> ,2006)	19
Figure 08 :	Inhibition de la réponse des neutrophiles à l'infection par <i>S.aureus</i> (adapter d'après Foster, 2005)	20
Figure 09 :	Mécanismes d'échappement à l'opsonophagocytose par <i>Staphylococcus aureus</i> (adapter d'après Foster, 2005)	21
Figure 10 :	Régulation des facteurs de virulence de <i>S.aureus</i> (adapter d'après Cheung <i>et al.</i> ,2004)	25
Figure 11 :	Image satellite montrant la localisation des 12 exploitations laitières incluses dans le cadre de dépistage des mammites subcliniques	44
Figure 12:	l'Appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse d'après (Faye et Barnouin ,1985)	45
Figure 13 :	Techniques d'échantillonnage	55
Figure 14 :	Réalisation du CMT	56
Figure 15 :	Matériel d'identification	59
Figure 16 :	Disque Céfinase (Souche productrice de β -lactamase)	60
Figure 17 :	Représentation schématique du protocole d'identification des souches bactériennes	60
Figure 18 :	Méthode de diffusion de disques	61
Figure 19 :	Méthode E-test	62
Figure 20 :	Matériel pour antibiogramme	63

Figure 21 :	Résultats des analyses bactériologiques	71
Figure 22 :	Nombre de souches isolées en fonction de rang de lactation	75
Figure 23 :	Quartiers avec résultat bactériologique positif pour le <i>S.aureus</i> en fonction de leurs localisations sur la mamelle	75
Figure 24 :	CMI de la Pénicilline G vis-à-vis de 54 souches de <i>S. aureus</i> positives ou négatives au test à la nitrocéfine	83
Figure 25:	CMI de l'Ampicilline vis-à-vis de 54 souches de <i>S. aureus</i> positives ou négatives au test à la nitrocéfine	83

Tableaux :

Tableau 01 :	Réponse immunitaire de la glande mammaire à <i>S.aureus</i> (sommaire)	23
Tableau 02 :	Les β - lactamines utilisées en médecine vétérinaire	33
Tableau 03 :	les vaccins testés contre le <i>S.aureus</i> provoquant des mammites bovines	40
Tableau 04 :	Caractéristiques des bâtiments d'élevage	47
Tableau 05 :	Procédures effectuées durant la traite	49
Tableau 06 :	Procédures effectuées durant et à la fin de la traite	51
Tableau 07 :	Traitement et suivi sanitaire	53
Tableau 08 :	Conduite du tarissement	54
Tableau 09 :	Interprétation des Scores CMT. (D'après Ruegg ,2002)	57
Tableau 10 :	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Staphylococcus sp</i> (CLSI : document M31-A2, 2004)	62
Tableau 11 :	Nombre et pourcentage des vaches ayant une réaction positive au test CMT par élevage	65
Tableau 12 :	Nombre et pourcentage des quartiers avec réaction positive au test CMT	66
Tableau 13 :	Intensité de la réaction CMT en relation avec l'élevage et les quartiers	68
Tableau 14 :	Prévalence de mammite subclinique en fonction du rang, du stade de lactation et de niveau de production	69
Tableau 15 :	Prévalence des pathogènes mammaires isolés à partir d'échantillons de lait cliniques et subcliniques	71
Tableau 16 :	Germes isolés et sévérité des symptômes cliniques	73
Tableau 17 :	Distribution des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> isolées au sein des élevages investigués	74
Tableau 18 :	Profils numériques "Galerie API ®STAPH" des 54 souches de <i>S.aureus</i> isolées des cas de mammites cliniques et subcliniques	77
Tableau 19 :	Production de β -lactamase et la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>S. aureus</i> isolées des cas de mammite	80
Tableau 20 :	La sensibilité in vitro de 54 souches de <i>Staphylococcus aureus</i> obtenu à partir des cas de mammites bovines cliniques et subcliniques	81
Tableau 21 :	Phénotypes de résistance des 54 souches de <i>S.aureus</i>	81

Abréviations

Agr	Accessory gene regulator
AIF	L'adjuvant incomplet de Freund
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BAP	Biofilm-associated protein
CCS	Concentration cellulaire Somatique
ClfA	Clumping factor A
ClfB	Clumping factor B
CLSI	Clinical and laboratory standards institute
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMT	California Mastitis Test
DANMAP	The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme
DSA	Direction des services agricoles
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
EMP	Vois d'Embden-Meyerhof Parnas
ETC	Entérotoxine C
FAME	Fatty Acid-Modifying Enzymes
FgBP	Fibrinogen binding protein.
FnBP	Fibronectin binding protein
FNRPA	Le Fonds national de régulation de la production agricole
GM	Glande mammaire
HMP	Hexose monophosphate
Hpi	Heure post-infection
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobuline
IIM	Infection intramammaire

IL	Interleukine
MARAN	Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands.
MLEE	Multi-locus Enzyme Electrophoresis
MLST	Multilocus sequence typing
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
NORM-VET	Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway
OF	Oxidation – fermentation
PAI	Peptide auto-inductible
PFGE	pulsed field gel electrophoresis
PLP	Protéines de liaison à la pénicilline
SAR	Staphylococcal accessory regulator
SCVs	Small colony variants
SVARM	Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring
TNF	Tumor necrosis factor
UFC	Unité formants colonie
UI	Unité international.

Introduction :

La résistance acquise aux antimicrobiens des bactéries est une menace croissante pour la santé humaine ainsi qu'en médecine vétérinaire. Par conséquent, la surveillance de la sensibilité aux antimicrobiens chez les bactéries pathogènes et commensales chez les animaux est recommandée par l'OIE (Acar et Rostel, 2001). Cette surveillance génère des données d'une importance majeure pour les décisions thérapeutiques et fournit des informations sur les tendances de la résistance.

Bien que certaines études (Zadoks *et al.*, 2002b), (Sommerhauser *et al.*, 2003) ont montré qu'il n'est pas possible d'éradiquer les infections intramammaires causées par ce micro-organisme, mais l'adoption des pratiques de contrôle réduit l'incidence et la prévalence à un niveau acceptable, ces pratiques de lutte actuelles comprennent les mesures d'hygiène au moment de la traite (en particulier la désinfection après la traite), le fonctionnement approprié de la machine à traire, l'abattage des animaux infectés de manière chronique, la séparation des animaux infectés et une thérapie antimicrobienne appropriée.

Le traitement antimicrobien joue un rôle dans la lutte contre la mammite en réduisant les niveaux d'infection du troupeau et en empêchant l'apparition de nouveaux cas. Toutefois, le taux de guérison bactériologique des mammites à *S.aureus* est relativement faible en raison des caractéristiques de l'agent pathogène tel que sa capacité de survivre à l'intérieur des leucocytes polymorphonucléaires et les changements pathologiques qu'il induit lors d'infections chroniques (Rabello *et al.*, 2005).

La Benzylpénicilline (pénicilline G) est un antibiotique largement utilisé dans le traitement de la mammite bovine causée par le *Staphylococcus aureus*. Pour les infections intramammaires avec des souches sensibles à la pénicilline G, cette dernière est considérée comme un antibiotique de première ligne en raison de son avantage thérapeutique par rapport aux pénicillines résistantes aux pénicillinases (Grave *et al.*, 1999). Malheureusement, la résistance à la pénicilline G est courante chez les Staphylocoques responsables des mammites, dans certains pays, environ 50% des isolats sont résistants (Gentilini *et al.*, 2000), (Erskine *et al.*, 2002), (Pitkälä *et al.*, 2004). Dans d'autres pays la résistance à la pénicilline est nettement inférieure (NORM-VET, 2001), (DANMAP, 2002), (SVARM, 2002) cela est le résultat de leurs politiques restreintes de traitement aux antibiotiques.

Le traitement des infections intramammaires à *S.aureus* est souvent infructueux, en particulier dans les mammites causées par des souches productrices de β -lactamase (Sol *et al.*, 2000), (Taponen *et al.*, 2003), (Barkema *et al.*, 2004). La Détection de la résistance est par

conséquent, nécessaire à la fois pour la sélection d'antimicrobiens et pour l'évaluation du pronostic.

Parmi les méthodes standardisées pour tester la résistance *in vitro*, la méthode de diffusion en gélose est techniquement facile à réaliser et si des mesures strictes de contrôle de la qualité sont appliquées, des informations précieuses peuvent être obtenues. Toutefois, ces tests ont de nombreuses lacunes concernant leurs performances techniques ainsi que d'interprétation des résultats. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus précise et fournit une concentration réelle indiquant la puissance de l'antibiotique contre une espèce bactérienne particulière. Pour la pratique clinique vétérinaire, les données de susceptibilité récentes pour les agents pathogènes communs signalés au niveau du troupeau et au niveau régional sont d'une grande valeur dans la sélection des agents antimicrobiens spécifiques.

Pour les Staphylocoques, des tests supplémentaires pour mettre en évidence la production de β -lactamase peuvent être nécessaires, en particulier pour les isolats ayant des CMI limites. Parmi les différents tests pour la détection de la β -lactamase, un test direct à la nitrocéfine (une céphalosporine chromogène) est recommandé pour les Staphylocoques, où la production d'enzymes est révélatrice de résistance à la pénicilline. Ainsi l'objectif de la présente étude été :

- De vérifier les profils de résistance aux antibiotiques des isolats mammaires de *S. aureus* de plusieurs troupeaux par la méthode de diffusion de disques en milieu gélosé en utilisant 07 antibiotiques pour la détermination du diamètre de la zone d'inhibition et de mesurer la CMI de 03 antibiotiques par la méthode E-test.
- D'évaluer la fiabilité du test à la nitrocéfine et préciser ses modalités pratiques de réalisation.

REVUE DE LA LITTERATURE

1. Anatomie de la glande mammaire

La mamelle de la vache laitière comprend quatre quartiers, chacun avec une glande sécrétrice individuelle drainée par un trayon. Les quatre glandes sécrétrices sont structurellement distinctes et fonctionnent de manière indépendante. Elles sont en effet séparées par un ligament médian de fixation et par des ligaments latéraux (profonds et superficiels) de support qui les attachent à la paroi abdominale et au bassin. Les quartiers avant et arrière sont séparés par une fine membrane conjonctive (Franz *et al.*, 2009) (figure 01 et 02).

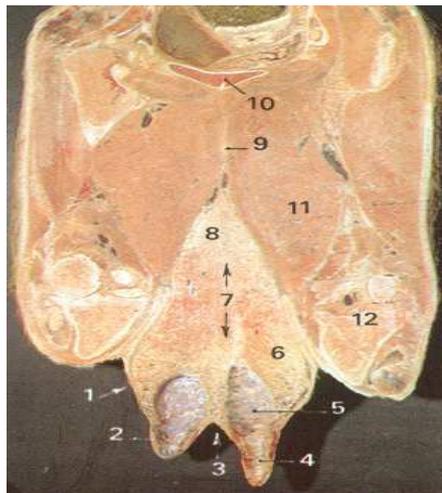


Figure 01 : Coupe transversale au niveau des quartiers abdominaux, segment crâniale (d'après Pavaux, 1982)

1 Corps de la mamelle ; 2 Papille de la mamelle ou Trayon ; 3 Sillon inter mammaire ; 4-5 Sinus lactifère ou Sinus galactophore. 4 Partie papillaire ou Citerne du trayon ; 5 Partie glandulaire ou Citerne galactophore ; 6 Glande mammaire; 7 Lig suspenseur du pis ; 8 Corps adipeux supra mammaire ; 9 Aponévrose d'origine commune des Mm. graciles ; 10 Symphyse pelvienne ; 11 Mm. Cruraux médiaux ; 12 Articulation du genou.



Figure 02 : Conformation générale du pis (d'après Pavaux, 1982)

1 Conduit papillaire ; 2-3 Sinus lactifère : 2 Partie papillaire, 3 Partie glandulaire ; 4 Anneau veineux de Fürstenberg. ; 5 Conduits lactifères ; 6 Glande mammaire ; 7-8 Appareil suspenseur des mamelles ; 7 Lames médiales (formant, par leur adossement, le lig. suspenseur du pis) ; 8 Lame latérale (gauche) ; 9 Tissu conjonctif sous-cutané ; 10 Peau mammaire,

1.1 Le parenchyme sécrétoire

Le lait est synthétisé dans des vésicules de 100 à 300 microns appelées alvéoles, organisées en grappes (lobules) qui s'ouvrent sur des arborisations canaliculaires intra et inter lobulaires qui drainent le lait de son lieu de sécrétion vers la citerne du pis et le trayon (figure 03). L'alvéole est tapissée par une seule couche de cellules cuboïdales (les lactocytes) fixées sur une membrane basale et il est entouré par une trame de cellules myoépithéliales qui expulsent le lait vers les canaux galactophores sous l'action de l'Ocytocine (Franz *et al.* , 2009).

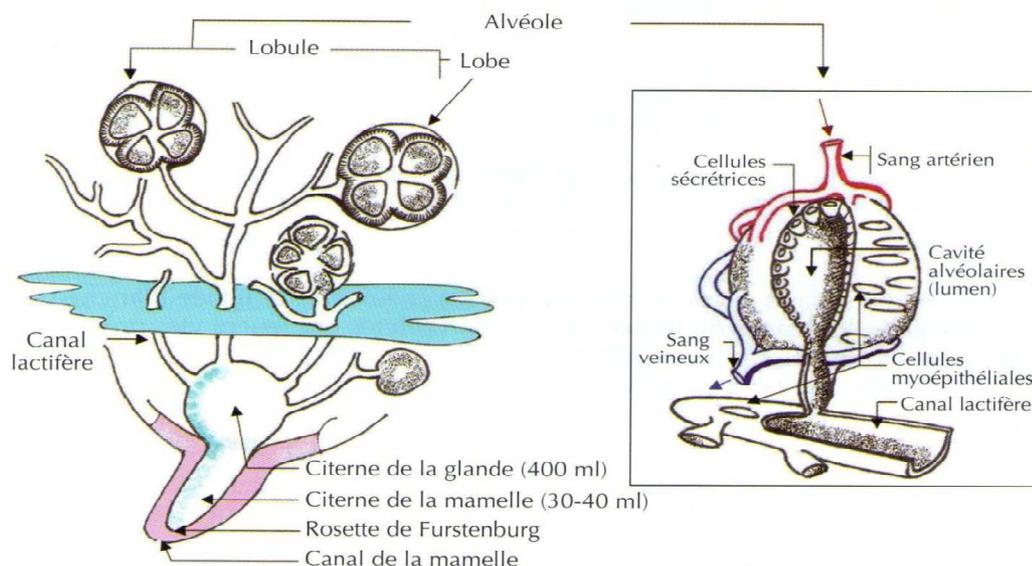


Figure 03 : Les différentes structures internes de la mamelle (d'après Rémy, 2010)

1.2 Le trayon

Le trayon est une structure creuse longue de 5-7 cm, il est constitué d'une citerne généralement remplie de lait et d'un canal.

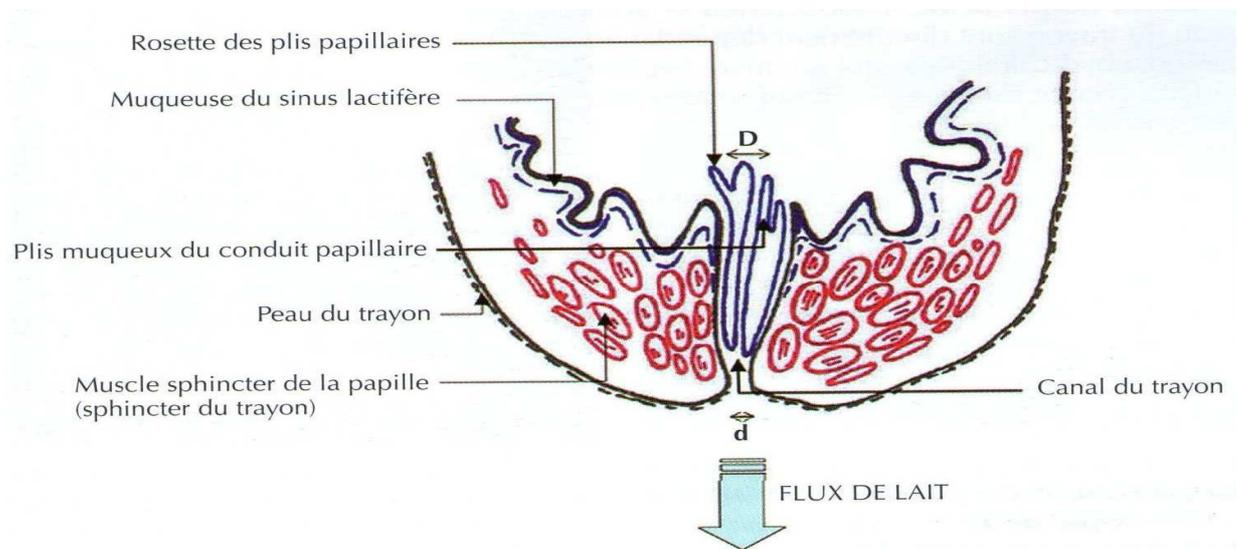
La paroi du trayon est ferme et épaisse et bien adaptée pour résister à la pression exercée par le vide dans le manchon trayeur (Rémy, 2010). Elle est constituée de plusieurs couches, chacune ayant une fonction importante dans le contrôle des mammites et / ou l'éjection du lait.

L'épiderme kératinisé sans follicules pileux ni glandes sébacées et sudoripares est le siège des terminaisons nerveuses sensorielles, tandis que la couche moyenne de muscle et de tissus conjonctif transporte les vaisseaux sanguins et lymphatiques et les nerfs (Franz *et al.*, 2009).

Le canal du trayon se trouve à l'extrémité inférieure du trayon, d'une longueur de 01 cm, il est généralement fermé. Pendant la traite son diamètre peut atteindre 02 mm (Rémy, 2010), La muqueuse du canal est tapissée d'un épiderme kératinisé semblable à celui de la peau, la kératine exerce une activité bactéricide via différentes substances et elle est la principale barrière contre les infections intra mammaire (Franz *et al.*, 2009).

Au niveau du canal les fibres musculaires lisses associées aux fibres élastiques et a celles de collagènes sont bien développées et se condensent à l'apex du trayon en un sphincter assurant normalement l'occlusion du canal entre les traites. À la jonction du canal du trayon et la citerne, la muqueuse s'épanouit en 5 ou 6 replis qui forment la Rosette de Fürstenberg (figure 04) qui sert de point d'entrée pour les leucocytes. Celle-ci est impliquée dans les premières étapes de la réponse immunitaire (Rémy, 2010).

La citerne du pis est séparée du sinus du trayon par un repli annulaire renfermant un tissu érectile veineux (plexus veineux proximal ou anneau veineux de Fürstenberg). Ce dernier peut surtout en fin de traite constituer un obstacle au passage du lait (Franz *et al.*, 2009).



Figures 04 : les différentes structures du canal du trayon (D'après Rémy, 2010)

2. L'immunologie de la mamelle et du trayon

Les bovins laitiers sont exposés à de nombreux facteurs génétiques, physiologiques et environnementaux qui peuvent compromettre l'immunité de l'hôte et augmentent l'incidence des mammites (Hopster *et al.*, 1998).

L'accent mis sur la sélection génétique afin de maximiser la production laitière a augmenté le stress métabolique associé à la synthèse et la sécrétion de lait et une corrélation négative existe entre la capacité de production de lait et la résistance aux mammites (Detillex *et al.*, 1995). L'emploi de la machine à traire, la densité d'élevage et l'utilisation de matériaux qui soutiennent la croissance bactérienne constituent également des facteurs qui peuvent avoir un impact marqué sur la sensibilité des bovins laitiers aux mammites (Sordillo et Streicher, 2002).

Toutefois, l'un des facteurs les plus importants connus pour influencer sur les capacités de défense de la glande mammaire est le stade de lactation. Les bovins laitiers sont particulièrement sensibles aux mammites pendant la période post partum à cause de la diminution des mécanismes de défense de la glande mammaire (Sordillo et Streicher, 2002).

La glande mammaire est protégée par une variété de mécanismes de défense, qui peuvent être séparés en deux catégories distinctes : l'immunité innée et l'immunité spécifique (Sordillo et Streicher, 2002).

La réponse non spécifique est médiée par la barrière physique du trayon, les macrophages, les neutrophiles, les cellules NK et par certains facteurs solubles.

L'immunité acquise reconnaît les déterminants spécifiques d'un pathogène qui facilitent son élimination sélective. Elle implique les anticorps, les macrophages et différentes populations lymphocytaires. En raison de la «Mémoire» de certains lymphocytes, la réponse immunitaire spécifique peut être augmentée par une exposition répétée à un agent pathogène (Sordillo et Streicher, 2002).

3. La mammite bovine

La mammite bovine est une maladie à incidence élevée et constitue la principale pathologie rencontrée en élevage laitier à travers le monde, même au sein des troupeaux avec des programmes de contrôle. La mammite est une inflammation de la glande mammaire qui se développe en réponse à des microorganismes pathogènes qui entrent par le canal du trayon et se multiplient à l'intérieur de la glande (Bannerman *et al.* , 2004). Le risque d'infection peut être augmenté par des facteurs chimiques, physiques ou traumatiques. Pour cette raison, la mammite est considérée comme une maladie multifactorielle qui inclut :

- l'espèce bovine en tant qu'hôte,
- les microorganismes comme agents causals,
- l'environnement, qui affecte à la fois la vache et le microorganisme causal (Schroeder, 1997).

Dans un troupeau de vaches laitières, il est possible de trouver des vaches en bonne santé, des vaches avec un quartier touché et des vaches avec quatre quartiers touchés (Barkema *et al.* , 1997).

Cette variabilité suggère que l'incidence et la prévalence des mammites repose sur des différences dans la susceptibilité de la glande à l'infection intramammaire (IIM). Divers facteurs ont une influence sur cette susceptibilité tels que la parité, la nutrition, le stade de lactation, le niveau de production laitière et la race (Smith *et al.*, 1997), (Zadoks *et al.* ,2001). En effet, il a été établi que les vaches forte productrices au cours de la gestation et en début de lactation sont les plus sensibles à l'infection par les pathogènes environnementaux (Wagter *et al.*, 2000), (Burvenich *et al.* ,2003). Il est possible pendant la période peripartum que les vaches éprouvent certaines altérations dans les mécanismes de défense associées soit avec des modifications dans le profil hormonal soit avec le stress métabolique ou physiologique (Mallard *et al.*,1998).

La mammite est une cause majeure de pertes économiques dans l'élevage laitier. Ces pertes sont principalement dues à :

- Une production réduite de lait (Houben *et al.* , 1993),(Hortet et Seegers,1998) ,
- La détérioration rapide du lait de mammites et aux pénalités imposées par l'industrie laitière (Présence de résidus d'antibiotiques) (Halasa *et al.*, 2007) ,
- Coûts élevés de traitement et de remplacement et la baisse du prix du lait de mauvaise qualité ainsi que l'abattage ou la mort des vaches malades (Halasa *et al.*, 2007) ,
- Une diminution de la fertilité (Loeffler *et al.*, 1999) ,(Schrack *et al.*,2001).

La mammite affecte également la santé publique en raison de l'altération du lait et dérivés par des microorganismes pathogènes producteurs de toxines (Rosec *et al.*, 1997), en plus les *Mycobactéries*, les *Brucelles*, les *Leptospires* et *Listeria* sont des agents zoonotiques qui peuvent infectés les humains à partir des produits laitiers (Bourry *et al.*,1995).

Les traitements antibiotiques fréquents des cas de mammite peuvent conduire à une prévalence accrue de résistance chez les pathogènes animaux (Teuber, 1999) et cela peut aboutir à l'émergence de bactéries zoonotiques résistantes aux antibiotiques qui peuvent être transmises aux humains par la chaîne alimentaire.

3.1 Etiologie

Un total d'environ 140 espèces microbiennes, sous-espèces et sérotypes ont été isolées de la glande mammaire bovine, les techniques microbiologiques ont permis une identification précise de la plupart des pathogènes de la mammite, basé sur leurs épidémiologie et physiopathologie, ces agents pathogènes ont été classés en tant que causes de mammites contagieuses ou d'environnement. Les bactéries contagieuses (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*) vivent et se multiplient dans les glandes mammaires infectées et peuvent se propager d'une vache à l'autre ou entre les quartiers d'un même animal. Par contre les bactéries pathogènes d'environnement (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* et les coliformes) sont souvent présentes dans la litière et leurs présences sur la glande mammaire (GM) se fait principalement par la contamination des trayons (Hogan et Smith, 1998), (Bradley ,2002).

D'une manière générale, l'infection intramammaire s'effectue en trois phases. L'invasion ou les microorganismes passent à travers le canal du trayon. L'infection durant laquelle les bactéries colonisent la citerne où elles se multiplient et se propagent dans tout le parenchyme glandulaire en fonction de la sensibilité de l'animal et enfin l'inflammation qui conduit à une augmentation considérable en cellules somatiques (neutrophiles) qui provoquent l'apparition des symptômes de la mammite clinique.

3.2 Classification

Ils existent différents types de mammites qui peuvent – être classées en mammite clinique qui est caractérisée par des symptômes locaux (pis enflé et douloureux avec une consistance dure, des changements dans la couleur et la consistance du lait) et dans certains cas des signes systémiques (hyperthermie, abattement, anorexie). A l'opposé, la mammite subclinique est la forme asymptomatique de la maladie ; bien que cette dernière provoque une diminution importante de la production de lait, à l'heure actuelle il n'existe pas de mesures de contrôle thérapeutiques. Enfin, la mammite chronique est caractérisée par une durée prolongée de l'infection mammaire, elle peut demeurer indéfiniment dans une phase subclinique, ou alterner entre les formes clinique et subclinique.

4 . La Mammite Bovine à *Staphylococcus Aureus*

4.1 Taxonomie

Rosenbach a donné la première description taxonomique aux Staphylocoques en 1884 quand il a divisé le genre en *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus albus*, bien que Pasteur et Ogston avaient observés des bactéries sphériques dans un pus d'abcès 4 ans plus tôt. Bradford et Niven en 1955 ont divisé les cocci anaérobies facultative et aérobies obligatoires dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement sur la base du test oxydation-fermentation (OF) du glucose. Une avancée majeure a eu lieu lorsque la composition en bases d'ADN a été comparée entre les *Staphylocoques* et les *Microcoques* (Silvestri et Hill, 1965), cela démontre que les Microcoques ont un contenu G+C de 63-73% mole, par rapport aux Staphylocoques qui ont un contenu G+C de 30-39 % mole, ce qui indique qu'ils ne sont pas significativement liée.

Des études systématiques ont distingué les Staphylocoques des Microcoques et d'autres bactéries en se basant sur la composition de la paroi cellulaire (Schleifer et Kandler ,1972), sur les cytochromes et ménaquinones (Faller et Schleifer, 1981), (Collins et Jones, 1981), sur les acides gras cellulaires et les lipides polaires (Nahaie *et al.*, 1984), et l'hybridation ADN-ARNr .

Récemment, la taxonomie du Phylum *Firmicutes*, à laquelle appartient les staphylocoques, a été entièrement révisée (Ludwig *et al.*, 2009). Le genre *Staphylococcus* appartient à la Classe des *Bacilli*, Ordre des *Bacillales*, la Famille *Staphylococcaceae*, conjointement avec les genres *Micrococcus*, *Jeotgalicoccus* et *Salinicoccus*.

4.2 Morphologie cellulaire et caractères cultureux

Les staphylocoques sont des Cocci Gram positif, de 0,5 à 1.5 μm de diamètre (figure 05), catalase positive et usuellement oxydase négative, disposés en amas, en diplocoques, en courtes chaînettes voire en grappes typiques. Ils sont immobiles, asporulés, parfois capsulés.

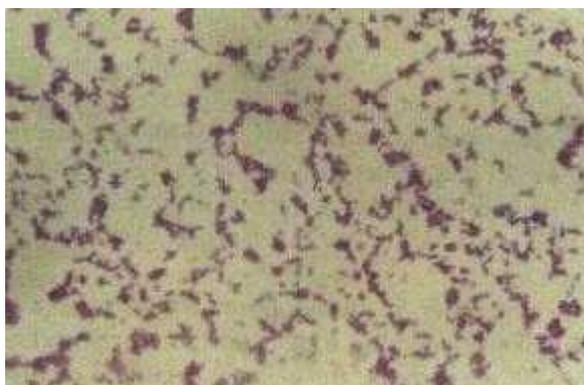


Figure 05 : *S.aureus* coloration de Gram (x1000) (Hart et Shears, 1997)

Le *S. aureus* est un germe aéro-anaérobie facultatif, capable d'utiliser une variété de carbohydrates comme source de carbone et d'énergie. Les voies d'Embden-Meyerhof Parnas-

(EMP) et de l'hexose monophosphate (HMP) sont les deux voies centrales utilisées par les staphylocoques pour le métabolisme du glucose (Strasters et Winkler, 1963), il croît abondamment sur milieu gélosé (colonies de 1 à 2 mm de diamètre) ; La culture est obtenue en 18 à 24 heures à 37°C (culture possible de 10 à 45°C) sur milieux ordinaires (figure 06).

Le *S. aureus* pousse en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 7,5 % de NaCl). Le pH optimal est de 7,0 à 7,5. Pour les produits monomicrobiens, l'isolement est facile en bouillon ou en milieu solide non sélectif (trypticase-soja, Mueller-Hinton). Pour les produits pathologiques polymicrobiens ou les aliments, on doit recourir à des milieux sélectifs comme le Manitol salt gar (milieu hypersalé + mannitol) ou milieu de Baird-Parker au tellurite (utilisé surtout en microbiologie alimentaire).

Le *S. aureus* peut être distingué des autres espèces de Staphylocoques sur la base de la pigmentation dorée des colonies, la production de coagulase, la fermentation du Mannitol et du Tréhalose et la production de Nucléase thermostable.

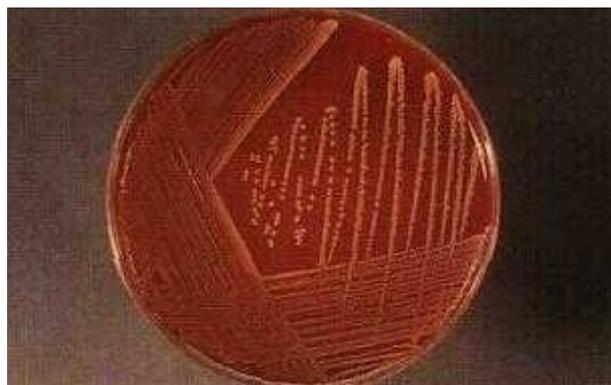


Figure 06: Colonies de *S.aureus* sur gélose au sang (Hart et Shears, 1997)

4.3 Épidémiologie et caractéristiques

Le *S. aureus* est considéré comme un agent pathogène mammaire contagieux, généralement propagé d'un quartier à l'autre à un niveau individuel et entre les vaches à la traite.

En raison de sa nature contagieuse, il est devenu un agent pathogène majeur du pis dans de nombreuses régions du monde. Il peut provoquer des mammites cliniques et subcliniques, répondant mal à la thérapie antimicrobienne et entraîne souvent des infections chroniques de longue durée (Sol *et al.*, 2000).

4.3.1 Prévalence

La prévalence des mammites cliniques à *S. aureus* est de 3,3% à 40% (Elbers *et al.*,1998), (Waage *et al.*,1999), (Bradley *et al.*,2007), (Ferguson *et al.*,2007), (Ericsson Unnerstad *et al.*,2008) , (Olde Riekerink *et al.*,2008), tandis que la proportion d'isolats de *S. aureus* lors de

mammites subcliniques dans certains pays et régions se situe entre 3,2% et 63% (Giannechini *et al.*, 2002),(Pitkala *et al.*, 2004), (Tenhagen *et al.*,2006) ,(Bradley *et al.*,2007).

Plusieurs rapports ont révélé la présence de plusieurs souches de *S. aureus* responsables de mammites bovine. Selon ces études quelques souches prédominantes, souvent largement diffusées parmi les troupeaux à travers les régions géographiques ont été associées à la plupart des infections de la mamelle (Matthews *et al.*,1994), (Kapur *et al.*, 1995), (Buzzola *et al.*, 2001), (Sabour *et al.*,2004), (Mork *et al.*, 2005), (Smith *et al.*, 2005).

Les différences régionales dans la répartition des souches ont également été décrites (Sabour *et al.*, 2004). En outre, dans un troupeau spécifique, il est commun de trouver une souche prédominante (Joo *et al.*, 2001).

4.3.2 Réservoirs et transmission

La probabilité d'infection de la mamelle augmente si l'hôte est en contact direct avec les réservoirs d'agents pathogènes, ou par contact indirect par l'intermédiaire d'objets contaminés.

Les réservoirs et les vecteurs passifs d'agents pathogènes tels que *S. aureus* peuvent être tracés par des méthodes phénotypiques et génotypiques et un certains nombres d'études ont été réalisées dans ce sens (Matos *et al.*,1991), (Roberson *et al.*,1994), (Roberson *et al.*,1998), (Larsen *et al.*,2000), (Middleton *et al.*,2002) , (Zadoks *et al.*, 2002b), (Jorgensen *et al.*, 2005), (Anderson et Lyman,2006), (Haveri *et al.*,2008).

La plupart de ces travaux ont étudié les sites extra mammaires associés à la propagation de l'infection au moment de la traite comme la peau des trayons des vaches en lactation, les lésions cutanées des trayons et du pis, les machines à traire et les mains et les narines des trayeurs.

Seules quelques études ont recherché la présence d'isolats de *S. aureus* sur d'autres sites corporels des vaches en lactation, chez des génisses en fin de gestation , sur des jeunes génisses , dans l'environnement des animaux, chez l'homme ou dans le lait de tanc et dans les produits issus de lait cru (Matos *et al.*,1991), (Roberson *et al.*,1994), (Roberson et al.,1998), (Jorgensen et al., 2005),(Capurro et al., 2010).

Dans les études de (Matos *et al.*, 1991), (Roberson *et al.*,1994,1998) différents endroits du corps chez des génisses et des vaches ont été échantillonnés et trouvés positif pour le *S. aureus* à des proportions variables. A titre d'exemple, les échantillons provenant des narines, des poils, du canal du trayon, du vagin et du périnée chez les génisses et ceux de blessures sur les mamelles et les trayons des vaches en lactation ont souvent été trouvés positifs pour *S. aureus* (Matos *et al.*, 1991). Dans l'étude de (Roberson *et al.*, 1998), les sources possibles de *S. aureus* dans le colostrum des génisses à la parturition ont été principalement le lait des vaches en lactation, mais aussi les sites corporels échantillonnés et l'environnement. Les proportions d'échantillons positifs variées entre les sites et entre les troupeaux.

Il y a lieu de citer que dans les études mentionnées ci-dessus l'identification du *S. aureus* a été faite à l'échelle d'espèces et non pas sur celui de la souche.

Comme plusieurs souches de *S. aureus* peuvent être présentes dans le même troupeau et pour une identification correcte des réservoirs et des vecteurs pour les infections de la mamelle, l'identification de la souche est essentielle (Sommerhauser *et al.*, 2003).

Différentes études ont tenté de trouver des souches de *S. aureus* associées aux mammites dans les sites extramammaires. L'utilisation de l'électrophorèse en champ pulsé (Zadoks *et al.*, 2002b), (Jorgensen *et al.*, 2005), (Haveri *et al.*, 2008), méthode de référence pour le typage des souches de *S. aureus* bovine (Bannerman *et al.*, 1995), (Zadoks *et al.*, 2002b) a permis d'identifier le même génotype dans le lait de mammite et dans les échantillons de peau et du canal du trayon, sur les mains et les narines des trayeurs et dans les lésions du trayon et du pis ainsi que dans le lait de tank et dans divers produits du lait cru.

À notre connaissance, aucune étude n'a investiguée les lésions du jarret comme un réservoir potentiel de *S. aureus*, ses lésions sont une constatation courante dans certains types de logement (Weary et Tazkun., 2000), (Fulwider *et al.*, 2007), (Rutherford *et al.*, 2008), (Lombard *et al.*, 2010) alors qu'une association entre les lésions du jarret et des CCS du lait élevés a été rapportée (Fulwider *et al.*, 2007).

Selon des études récentes, les souches de *S. aureus* peuvent avoir une virulence hétérogène. Cette virulence est responsable de mammites de divers degrés de sévérité, de l'habilité des souches à se propager intra et inter troupeaux, de leur capacités à causer des infections persistantes de la mamelle et de survivre dans les sites extra-mammaires (Dziewanowska *et al.*, 1999), (Zadoks *et al.*, 2000), (Larsen *et al.*, 2000), (Sommerhauser *et al.*, 2003), (Brouillette *et al.*, 2003), (Zecconi *et al.*, 2006), (Haveri *et al.*, 2007), (Fournier *et al.*, 2008). Ces souches sont susceptibles d'exprimer des facteurs de virulence d'une grande importance, ainsi la présence de gènes codant pour la protéine A, la protéine liant la fibronectine (*FnBP*), l'hémolysine, les leucocidines et les toxines super antigéniques pyrogènes facilitent l'invasion et la persistance du *S. aureus* dans la glande mammaire bovine (Dziewanowska *et al.*, 1999), (Brouillette *et al.*, 2003a), (Haveri *et al.*, 2007).

Dans ce sens (Zecconi *et al.*, 2006) ont confirmé que le développement des mammites subcliniques pouvait être lié aux caractéristiques des souches et à l'expression de combinaisons spécifiques de facteurs de virulence.

Dans l'étude de (Fournier *et al.*, 2008), les résultats ont démontré une forte association entre les génotypes et les types de gènes de virulence ainsi qu'entre les propriétés épidémiologiques et pathogéniques de *S. aureus*; en particulier, le génotype B présenté une

pathogénicité et une contagiosité élevés, tandis que le génotype C et les autres génotypes (O-G) ont été trouvés associés à des infections individuelles.

Dans l'étude de (Haveri *et al.*, 2005a) l'inflammation de la mamelle variée en fonction des pulsotypes, ce qui supporte la notion d'association entre pulsotypes et sévérité des symptômes.

Récemment (Anderson et Lyman, 2006) ont rapporté que la persistance d'infections été associées avec certaines souches de *S. aureus* isolées de troupeaux avec des problèmes de haut CCS et une production de lait réduite.

4.4 La pathogénie des mammites à *S. aureus*

De nombreux auteurs ont décrit trois phases lors d'infection à *S. aureus* : l'adhésion aux cellules de l'hôte et à la matrice protéique extracellulaire, l'invasion ou la pénétration et l'évasion du système immunitaire de l'hôte (Foster, 2005).

L'entrée du *S. aureus* dans le canal du trayon peut conduire à une infection intramammaire, mais cela dépend de certaines conditions comme pour toute autre infection (le nombre initial de bactéries, l'accès du microbe au tissu cible, la virulence de la souche et l'immunité de l'hôte).

4.4.1 L'adhésion du pathogène

Le *S. aureus* est l'un des agents pathogènes les plus importants de la mammite bovine, qui peut adhérer aux cellules des glandes mammaires *in vivo* (Sordillo et Nickerson, 1989) et *in vitro* (Hensen *et al.*, 2000). L'adhésion *in vitro* varie en fonction de la souche du *S. aureus*, du milieu et de la phase de croissance et de l'origine des cellules épithéliales mammaires.

Le canal du trayon représente le premier moyen de défense et est franchi par le *S. aureus* lors de la traite, permettant ainsi la dissémination des bactéries à l'ensemble du parenchyme mammaire (Sutra et Poutrel, 1994). Après cette intrusion, la première étape dans la colonisation de la glande mammaire consiste à l'adhésion des *S. aureus* aux cellules de l'hôte et à la matrice protéique extracellulaire. Cet attachement permet aux bactéries de ne pas être évacuées par le flux physiologique et inverse du lait.

L'adhérence de *S. aureus* aux membranes cellulaires est médiée par un groupe d'adhésines appelées **Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules** (MSCRAMM) constituées de protéines se liant à la fibronectine (FnBP), au fibrinogène FgBP « les *clumping factor* (Clf) A et B », au collagène (Cna) ainsi que l'acide teichoïque et certains composants des biofilms.

Des études approfondies ont permis d'identifier deux MSCRAMMs de *S. aureus*, la FnBPA et FnBPB capables de se lier à la fibronectine (Fröman *et al.*, 1987), (Signäs *et al.*, 1989), (Jönsson *et al.*, 1991) et jouant un rôle important dans l'invasion par *S. aureus* (Lammers *et al.*, 1999). L'adhérence de *S. aureus* aux cellules hôtes est essentielle à l'invasion et dépend,

d'une part, des protéines de surface bactériennes capables de se lier à la fibronectine et d'autre part, des intégrines $\alpha 5\beta 1$ des cellules hôtes (Dziewanoska *et al.*, 2000).

Les Fibrinogen-binding MSCRAMMs permettent l'adhésion au fibrinogène, le ClfA et le ClfB provoquent l'activation et l'agrégation plaquettaire, en plus le ClfB permet la liaison à la cytokératine épidermique (Siboo *et al.*, 2001), (O'Brien *et al.*, 2002b, 2002a).

Le facteur d'affinité pour le collagène est également importante pour promouvoir l'attachement des bactéries à des tissus endommagés où les couches sous-jacentes ont été exposées (Patti *et al.*, 1992).

Les acides teichoïques groupe de polymères contenant des résidus du polyglycérol-phosphate ou de ribitol - phosphate localisés sur la paroi cellulaire, la capsule ou à la membrane de bactéries gram-positives. Les acides teichoïques liés à la paroi cellulaire sont fixés d'une manière covalente au peptidoglycane est présentent des structures contenant du glycérol-phosphate et du ribitol-phosphate, ils ne sont pas présents dans toutes les espèces de bactéries Gram-positives et leur présence dépend des conditions de croissance. En revanche, les acides teichoïques sont liés de façon covalente aux glycolipides de la membrane plasmique, leur présence ne dépend pas des conditions de croissance est sont plus importantes par rapport aux acides teichoïques liés à la paroi. Les acides teichoïques et lipotéichoïques servent de récepteurs pour l'adhésion aux cellules épithéliales des muqueuses (Weidenmaier *et al.*, 2004) et permettent aux bactéries de résister aux peptides anti microbien (Nizet, 2006). Leurs rôles exacts dans la mammite bovine à *S. aureus* ne sont pas connus.

Les protéines associées aux biofilms interviennent dans la fixation des bactéries aux tissus hôtes et à l'internalisation cellulaire. En effet, il a été démontré que ces protéines étaient présentes chez une population réduite de bactéries isolées des cas de mammites bovines (5% des isolats testés), mais ils étaient absentes dans 75 souches cliniques de *S. aureus* humaine analysées (Cucarella *et al.*, 2001).

4.4.2 Invasion des cellules épithéliales mammaires bovines

La pénétration intracellulaire du *S. aureus* a été observée sur les cellules sécrétrices épithéliales mammaires de souris infectées expérimentalement (Bramley *et al.*, 1989), sur des cultures de cellules épithéliales mammaires de vaches (Almeida *et al.*, 1996), (Lammers *et al.*, 1999), (Hensen *et al.*, 2000a) et sur des cellules épithéliales isolées à partir de lait de mammite (Hébert *et al.*, 2000). Des études *in vitro* ont également démontré que le *S. aureus* envahit aussi d'autres cellules non phagocytaires telles que les cellules endothéliales, les fibroblastes et les ostéoblastes (Menzies et Kourteva, 1998), (Jevon *et al.*, 1999).

La pénétration du *S. aureus* à l'intérieur des cellules hôtes nécessite l'activation des protéines tyrosine-kinases, impliquées dans l'initiation d'un signal intracellulaire et la

polymérisation des micro filaments d'actine à la base d'un réarrangement du cytosquelette (Boulonger *et al.*, 2005). Le *S. aureus* synthétise et sécrète de nombreux facteurs facilitant l'invasion et la pénétration du parenchyme mammaire, tels que des toxines (les hémolysines, les leucocidines) et des enzymes (Sortase, Protéase, Coagulase, Lipase, Hyaluronidase) (Suriyaphol *et al.*, 2009).

Les toxines hémolytiques (surtout les toxines α et β) jouent un rôle dans la pathogénèse de la mammite bovine à *S. aureus* (Sutra et Poutrel, 1994). L'alpha hémolysine se lie à la membrane plasmique des cellules épithéliales et induit la formation de pores se qui provoque la fuite des molécules de faible taille du cytosol et conduit à la mort cellulaire. Cette toxine, souvent produite par des isolats de *S. aureus* provoquant des IIM (Akineden *et al.*, 2001) est toxique pour les cellules mammaires bovines (Bramley *et al.*, 1989), dermonécrotique et neurotoxiques (Dinges *et al.*, 2000) , elle provoque l'erythrolyse , perturbe l'équilibre des ions de la cellule hôte et est nécessaire pour la formation des biofilms (Caiazza *et al.*, 2003) et joue un rôle présumé dans la mammite bovine suraiguë à *S. aureus* (Kenny *et al.*, 1993) , (Matsunaga *et al.*, 1993).

La toxine β est une Sphingomyélinase C qui hydrolyse la Sphingomyéline de la membrane plasmique qui provoque une perméabilité accrue (Sutra et Poutrel 1994) avec un efflux rapide de K^+ et afflux de Na^+ , Cl^- et Ca^{2+} conduisant à la lyse cellulaire. La beta -hémolysine est produite par la plus part des souches de *S.aureus* bovines, elle accroît l'effet de l'alpha-hémolysine et renforce l'attachement du *S.aureus* aux cellules épithéliales mammaires (Cifrian *et al.*, 1995,1996).

La famille des leucotoxines comprend des toxines qui endommagent les membranes des cellules phagocytaires en induisant la formation de pores et un influx de Ca^{2+} . Les leucocidines sont composé de deux sous-unités de protéines apparentées (classes S et F) dont l'effet toxique dépend de leurs actions synergiques. La famille des leucotoxines Staphylococcique comprend le Panton-Valentine leucocidine (LukS-PV _ LukF-PV) , la β -hemolysine (HlgA _ HlgB et HlgC_ HlgB) et le plus récemment décrit LukM (LukM + LukF'-PV) et Luke/D (LukE _ LukD), (Rainard *et al.* ,2003) ,(schuberth *et al.*, 2001) ,(Fueyo *et al.* ,2005).

Le *S. aureus* est capable d'excréter une protéine provoquant la coagulation du plasma humain ou du lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine ou EDTA) et appelée Coagulase libre. Un Staphylocoque produisant cette toxine sera identifié comme *S. aureus*. Mais 02 espèces observées en pratique vétérinaire peuvent produire cette enzyme : le *S. intermedius* et le *S. hyicus*. La formation du coagulum ne nécessite pas la présence de calcium, elle n'est pas activée par le fibrinogène purifié, mais a besoin d'une globuline voisine de la prothrombine (coagulase-reacting-factor). Cette coagulase est antigénique (7 groupes antigéniques) et entraîne l'apparition

d'anticorps inhibant l'activité biologique, Au laboratoire, la détection de la coagulase s'effectue en mettant en présence du plasma de lapin la souche à étudier dans un tube à 37°C ; la prise en masse du mélange est réalisée en 3 à 6 ou parfois en 24 heures ; la coagulation peut être suivie d'une dissolution du caillot par suite de l'action de la staphylokinase.

Les lipases, les estérases et les enzymes modifiant les fonctions des acides gras (FAME) et les phospholipases agissent comme des surfactants contre une variété d'acides gras et molécules lipidiques que les cellules hôtes produisent afin de détruire la membrane bactérienne (Chamberlain et Imanoel, 1996).

La protéase Staphylococcique la mieux décrite est la sérine protéase, connu sous le nom de la protéase V8. Cette dernière à la capacité de cliver et d'inactiver les anticorps IgG in vitro. Les protéases jouent un rôle dans la protection contre les peptides antimicrobiens, tels que les défensines ou les protéines plaquettaires microbicides. La protéase V8 est responsable de la dégradation des fibronectin-binding proteins, induisant ainsi la propagation des bactéries après l'étape de l'adhésion initiale (McGavin *et al.* 1997).

La Hyaluronidase représente une famille d'enzymes qui digèrent l'acide hyaluronique et fluidifie la substance fondamentale du tissu conjonctif (Hynes et Walton, 2000).

4.4.3 L'évasion du système immunitaire

La capacité de *S. aureus* d'échapper à la réponse immunitaire et de survivre à l'intérieur des cellules est fondamentale pour sa persistance pendant de longues périodes. Pour cela le *S. aureus* secrète de nombreux facteurs de virulence dont les toxines superantigéniques, la protéine A, la capsule polysaccharidique ainsi que la production de biofilms (Sutra et Poutrel, 1994).

Les toxines superantigéniques comprennent les entérotoxines et la toxine du choc septique (TSST-1) et sont capables de lier directement le CMH type II des cellules présentatrices d'antigènes, provoquant une prolifération incoordonnée des lymphocytes T et une libération de cytokines pro-inflammatoires non spécifiques (Ferens *et al.*, 1998), (Kuroishi *et al.*, 2003). l'entérotoxine C (ETC) est la toxine le plus souvent sécrétée par les souches de *S. aureus* provoquant des mammites bovines (Ebling *et al.*, 2001), (Orwin *et al.*, 2003) et il est intéressant de noter que la gravité de la mammite aiguë a été liée à une augmentation de la production de l'ETC (Kuroishi *et al.*, 2003).

La protéine A est constitutive de la paroi cellulaire de la plupart des souches virulentes de *S. aureus* isolées à partir des IIM bovines (sutra et poutrel, 1994), elle inhibe l'opsonisation et la phagocytose médiées par les anticorps dirigés contre *S. aureus*, en fixant la fraction constante des immunoglobulines de type G (IgG) (Foster, 2005).

La capsule polysaccharidique est une couche d'exopolysaccharide qui couvre la paroi cellulaire de certaines souches y compris la plupart des isolats cliniques de *S. aureus* provenant

des infections humaines et de mammites bovines. Il ya 11 sérotypes capsulaires de *S. aureus* issus d'infection humaine tandis que 12 sérotypes ont été identifiés à partir des prélèvements de mammites bovine et les polysaccharides capsulaires (CP₅ et CP₈) sont les plus répandues (Sordelli *et al.*, 2000) , la capsule est capable d'interférer avec la phagocytose du *S. aureus* (Thakker *et al.*,1998) et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire (Risley *et al.*,2007). Cependant, bien que la majorité de souches de *S. aureus* humaines expriment une capsule, la production de celle-ci par les souches bovines semble plus variable, sous-tendant une moindre contribution de ce facteur dans la pathogénie et la chronicité des mammites à *S. aureus* bovines (Poutrel *et al.*, 1988),(Sordelli *et al.*, 2000), (Tollersrud *et al.*,2000). En plus, l'absence de capsule, favorise l'internalisation des *S. aureus* à l'intérieur des cellules de l'hôte et pourrai faciliter la chronicité de ce type d'infection intramammaire (Tuchscherr *et al.*, 2005).

La staphylokinase se lie à l' α défensines et inhibe sont activité bactéricide (Bokarewa *et al.*, 2004), en plus elle transforme le plasminogène en plasmine, qui se lie à l'IgG et au composant C3b du complément, conduisant à une fonction anti-opsonisante (Rooijakkers *et al.*, 2005).

Les biofilms sont une communauté structurée de cellules bactériennes enfermées dans une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante. Cela peut constituer un mode protégé de croissance qui permet la survie des bactéries dans un environnement hostile. Les bactéries associées aux biofilms développent une résistance innée aux antibiotiques, aux désinfectants et aux mécanismes de défense de l'hôte. Un biofilm est formé par des étapes multiples qui comprennent la fixation initiale (Mack, 1999), l'adhérence et la prolifération (Yarwood et Schlievert, 2003), la maturation (Dunne, 2002) et le détachement des cellules planctoniques (figure 07). Les éxopolymères formant le biofilm protègent les bactéries des composants du système immunitaire de l'hôte, une diminution de l'activité bactéricide des neutrophiles a été observée contre les souches de *S. aureus* productrices de slim (Barrio *et al.*, 2000). Chez le *S. aureus* le poly-N-succinyl- β -1-6-glucosamine (PIA / PNSG) et la protéine associée au biofilm (BAP) sont impliqués dans la formation de biofilms (Götz, 2002). Le PIA / PNSG est codée par l'opéron *ica* ADBC. La formation du biofilm est régulé par quorum-sensing chez les staphylocoques et l'*agr* réduit la formation de biofilm et diminue ainsi la virulence des souches (Cucarella *et al.*,2002) . En plus, des peptides synthétiques inhibiteurs de l'ARN III régulent à la baisse l'expression du gène de la formation de biofilms et la production de toxine *in vitro* (Balaban *et al.*,2007).

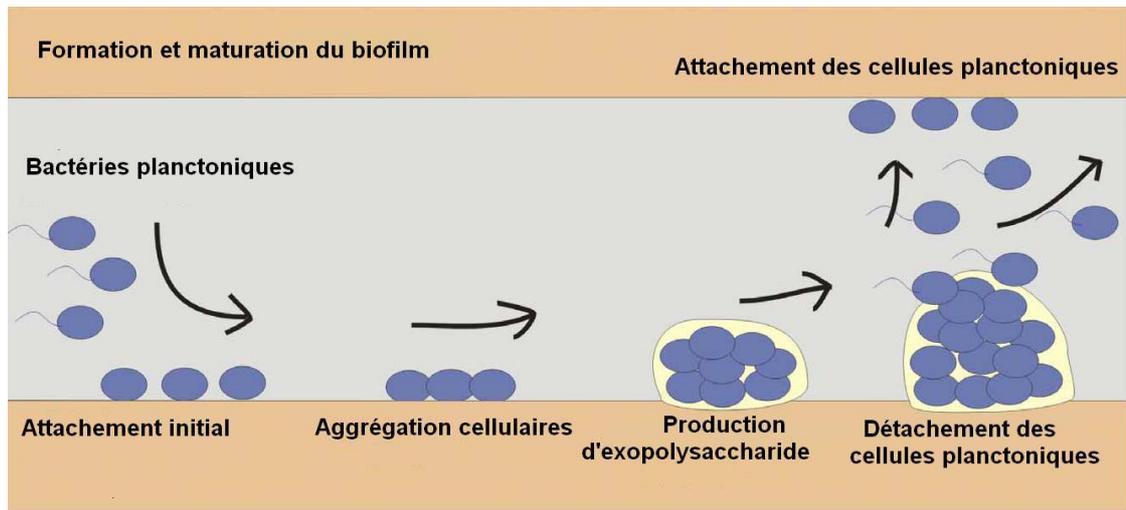


Figure 07 : Les étapes de formation du Biofilm (adapter d'après Melchior et al ., 2006)

Pour les pathogènes mammaire l'adhérence a été étudiée *in vitro* et *in vivo* (Aguilar et Iturralde, 2001), (Almeida *et al.*, 1999) ,(Almeida et Oliver, 2001), (Hensen *et al.*, 2000a) , (Hensen *et al.*, 2000b). L'examen microscopique des *S. aureus* dans le tissu mammaire lors d'infections aiguës et chroniques a montré que les bactéries sont principalement disposées en amas à l'intérieur des alvéoles et des canaux galactophores, en association avec les cellules épithéliales (Hensen *et al.*,2000a) et apparaissent environ 24 h après l'exposition à l'agent pathogène . La présence du locus *ica* parmi les isolats de *S. aureus* de mammites a été récemment étudiée par (Vasudevan *et al.*, 2003) ; tous les 35 isolats testés possédaient le locus *ica*, mais n'étaient pas tous positifs avec le Congo red agar ou le test de dosage du biofilm et cela indique qu'il y a une forte prévalence des gènes *ica* parmi les isolats mammaires de *S. aureus*.

L'hypothèse, que les infections mammaires sont associées à la formation de biofilm est également soutenue par le changement observé dans la sensibilité aux antimicrobiens. En général, les antibiotiques ont un effet plus important sur les biofilms jeunes (6h) que sur les anciens biofilms (18h) (Amorena *et al.*, 1999). Ces expériences montrent également que la Gentamicine et l'Erythromycine sont les antibiotiques les moins efficaces contre les biofilms formés par le *S. aureus*.

En cas de mammite le phénomène de la phase de variation et sa transition simultanée à partir de la forme subclinique à l'infection clinique (et vice-versa) est bien connu. Les changements physiologiques dans la mamelle bovine, qui ont lieu durant la période de transition, semblent provoquer des changements dans l'expression des gènes bactériens et incitent la régulation des gènes de virulence et le passage de la phase de croissance en biofilm «défensive» à une phase «offensive» de croissance, ce qui entraîne l'inflammation et les signes cliniques de la maladie (Melchior *et al.*, 2006).

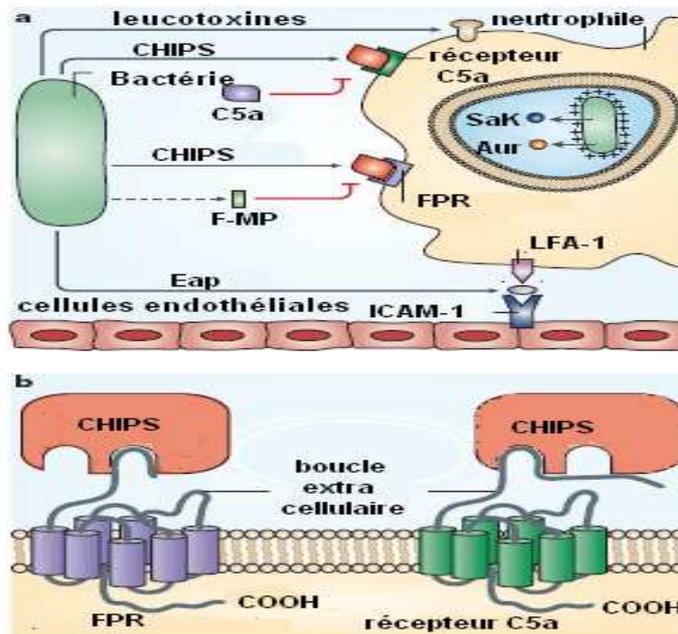


Figure 08 : Inhibition de la réponse des neutrophiles à l'infection par *S. aureus* (adapté d'après Foster, 2005)

(a) Les protéines CHIPS et Eap interfèrent avec le chimiotactisme et l'extravasation des neutrophiles. La résistance à la destruction par les peptides antimicrobiens dans le phagosome des neutrophiles est favorisée par des modifications de la D-alanine et L-lysine des composants de la paroi cellulaire (indiquées par des +), par la sécrétion de staphylokinase (SaK) et d'auréolysine (Aur), et par la création de phagosomes spacieux dans lesquels les bactéries peuvent survivre. Les leucotoxines formant des pores sont représentées par les insertions en forme de champignons dans la membrane des neutrophiles. (b) Modèle d'interactions entre CHIPS et le récepteur FPR (Formyl Peptide Receptor) et le récepteur C5a. Deux domaines de liaison distincts mais étroitement liés dans les CHIPS sont représentés, un pour l'extrémité N-terminale de FPR, le deuxième pour un domaine du récepteur de C5a.

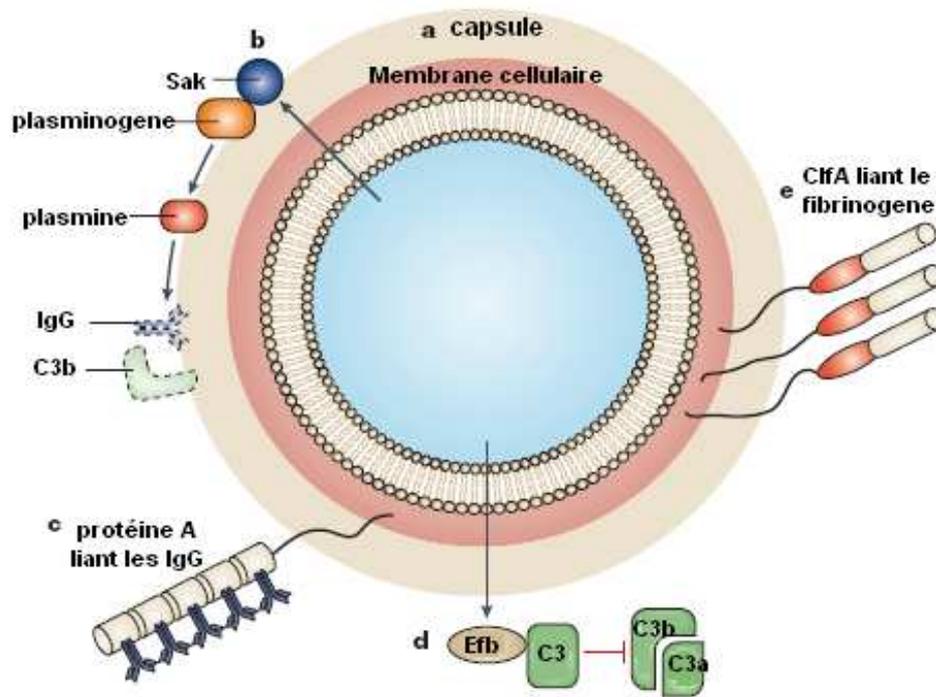


Figure 09 : Mécanismes d'échappement à l'opsonophagocytose par *Staphylococcus aureus* (adapté d'après Foster, 2005)

La figure illustre (a) la capsule polysaccharidique qui compromet l'accès des neutrophiles et la liaison au complément et aux anticorps ; (b) la staphylokinase extracellulaire (Sak) qui active le plasminogène lié à la cellule et clive les IgG et C3b ; (c) la protéine A avec 05 domaines liant les Fc des IgG ; (d) la protéine Efb qui lie le facteur C3 et l'empêche de se déposer sur la surface bactérienne. L'activation du complément après l'attachement de C3b est empêchée, inhibant ainsi l'opsonisation. (e) Le facteur ClfA, qui lie la chaîne γ du fibrinogène.

4.4.4 L'interaction entre le *Staphylococcus aureus* et le système immunitaire bovin

L'infection de la GM par le *S. aureus* est caractérisée par le recrutement des neutrophiles, l'activation des lymphocytes et la production de cytokines (Tableau 01). Par conséquent, pour évaluer la réponse immunitaire induite, différents marqueurs inflammatoires telles que la BSA (sérum albumine bovin), le TNF- α , IL-1 β , IL $_8$, IL $_{12}$, IFN- γ et le C $_5$ a ont été mesuré (Alluwaimi, 2004), (Bannerman *et al.*, 2004).

Dans la mammite clinique, par exemple, une augmentation importante du BSA dans le lait (utilisée pour déterminer les changements de la perméabilité vasculaire) a été observée à 24 heure post-infection (hpi). En revanche, lors de mammites subcliniques une augmentation significative du niveau de BSA n'a pas été détectée (Riollet *et al.*, 2000). Ces résultats opposés démontrent que le type de la mammite dépend, en partie, de la réponse immunitaire de la GM à

l'infection par le *S. aureus*. Au cours d'une mammite chronique causée par *S. aureus*, il y a une augmentation du CCS (neutrophiles) de 3-22% (GM non infectées) à 55-96% (GM infectées). Cette augmentation coïncide avec l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Bannerman *et al.*, 2004), l'augmentation du nombre de neutrophiles au cours de la mammite subclinique causée par *S. aureus* coïncide avec une augmentation de la concentration d'IgG₂ qui favorise une phagocytose plus efficace des bactéries (Leitner *et al.*, 2000).

Le recrutement des neutrophiles à la GM infectée est favorisé par l'IL₈, mais dans l'infection subclinique, l'IL₈ n'a pas été détecté dans le lait et le facteur C_{5a} n'a montré qu'une augmentation transitoire à 32 hpi (Bannerman *et al.*, 2004), (Riollet *et al.*, 2000). Ces résultats suggèrent que le recrutement des neutrophiles ne dépend pas de l'activité des molécules chimiotactiques.

La variation des sous-populations lymphocytaires au cours des phases aiguës et chroniques d'une mammite causée par *S. aureus* n'est pas complètement élucidée. Les lymphocytes CD₄₊ se trouvent en plus grand nombre dans les GM non infectées (45,3 ± 4% de CD₄₊ Vs 37,7 ± 3,8% de cellules CD₈₊). Toutefois, lors d'une infection causée par *S. aureus* il ya une prolifération des deux types cellulaire CD₄₊ et CD₈₊. Lorsque l'infection s'installe, le recrutement des lymphocytes TCD₈₊ prédomine, ce qui suggère que ces lymphocytes jouent un rôle important dans la mammite chronique causée par *S. aureus* (Riollet *et al.*, 2001), (Rivas *et al.*, 2002) et (Grönlund *et al.*, 2006).

Les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle important dans la réponse immunitaire contre les infections à *S. aureus*. Une augmentation significative de la transcription du TNF- α a été trouvée lors de mammite clinique causée par *S. aureus* à 24 hpi avec une forte baisse 8 h plus tard (Alluwaimi *et al.*, 2003). La diminution de la concentration du TNF- α coïncidé avec une augmentation de l'IL_{1 β} pendant 8h suivi de sa baisse à des niveaux indétectables. Ces résultats suggèrent que les deux cytokines jouent un rôle important dans les premiers stades de la mammite ce qui pourrait expliquer l'inefficacité de la réponse immunitaire de la GM pour éliminer le *S. aureus* pendant de longues périodes, ce qui favorise probablement la forme chronique de la maladie.

Dans la mammite aiguë causée par *S. aureus*, une augmentation de la production d'IL₁₂ est détectable à 32 hpi. Pendant cette période, la concentration d'IFN- γ augmente de manière significative et reste à des niveaux élevés pendant une longue période (> 168 hpi), ce résultat suggère que l'IFN- γ influe sur la production d'IL₁₂ et il est intéressant de noter, que la production d'IFN- γ est associée à des faibles niveaux d'IL₁₀ (Bannerman *et al.*, 2004).

Tableau 01 : Réponse immunitaire de la glande mammaire à *S.aureus* (sommaire)

Bactérie	Type de mammité	Réponse immunitaire
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clinique, subclinique et chronique	Augmentation des CCS
		Elévation transitoire des concentrations du : TNF- α , IL-1 β , C5a
		Augmentation de la concentration d'IL-12
		recrutement des lymphocytes T CD8+
		Augmentation de la concentration d'IgG2

4.4.5 Conséquences de l'invasion de cellules non-phagocytaires par le pathogène

4.4.5.1 Survie et prolifération intracellulaire

Bien que *S. aureus* ait souvent été observé au sein d'endosomes (Hamill *et al.*,1986) , (Almeida *et al.*, 1996) , (Kahl *et al.*, 2000), plusieurs études ont montré la bactérie libre dans le cytoplasme (Hudson *et al.*,1995) , (Bayles *et al.*, 1998) , (Brouillette *et al.*, 2003b). Le *S. aureus* pénétrerait donc à l'intérieur de la cellule-hôte via un endosome, dont il s'échapperait après un certain temps pour se relocaliser dans le cytoplasme. Cependant, les mécanismes moléculaires développés lors de ce processus sont encore mal connus.

4.4.5.2 L'apoptose des cellules infectées

L'apoptose associée à l'invasion de *S. aureus* a été reportée dans les cellules épithéliales (Bayles *et al.*, 1998) , (Kahl *et al.*, 2000) ,(Wesson *et al.*,2000), les cellules endothéliales (Menzies et Kourteva, 1998) et les ostéoblastes (Tucker *et al.*, 2000) , mais les avis divergent quant à savoir si l'apoptose est induite par la cellule-hôte pour se défendre ou par le *S. aureus* pour se propager.

4.4.5.3 Formation des variants « petites colonies »

Plusieurs études ont également démontré que *S. aureus* était capable d'envahir et de survivre à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires (Almeida *et al.*, 1996) , (Bayles *et al.*, 1998) , (Atalla *et al.*, 2010) et de résister à l'activité bactéricide des cellules phagocytaires (Hébert *et al.*, 2000) , (Voyich *et al.*, 2005) ,(Garzoni et Kelley, 2009).

Parallèlement, une sous-population phénotypique de *S. aureus* intracellulaires a été caractérisée par la faible taille et dénommée «small colony variants» (SCVs) (Carter et Kerr, 2003), (Brouillette *et al.*, 2004) ,(Proctor *et al.*, 2006), (Atalla *et al.*, 2010) , (Mitchell *et al.*, 2010). Ces SCVs sont fréquemment isolés lors d'infections chroniques chez l'homme et chez le bovin et sont très résistants à de nombreux antibiotiques (Sompolinsky *et al.*,1974) , (Proctor *et al.*, 2006).

La persistance intracellulaire de *S.aureus* pourrait contribuer à l'établissement d'infections chroniques en permettant à la bactérie d'échapper à l'action de nombreux antibiotiques et du système immunitaire humoral (Brouillette *et al.*, 2004) , ces SCV pourraient jouer un rôle de réservoir pour la récurrence de la maladie.

4.5 Régulation des facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

Des stimuli environnementaux conduisent à des changements dans divers micro-organismes et ces stimuli induisent des modifications dans l'activité cellulaire par induction de la transcription de gènes spécifiques qui sont nécessaires pour s'adapter aux nouveaux changements. Afin d'optimiser leur capacité à infecter de nombreuses niches tissulaires et à proliférer de manière efficace, les bactéries ont développé, un système régulateur «*Quorum-sensing*», qui permet la communication de cellule à cellule, ainsi que la régulation de nombreux facteurs de colonisation et de virulence. Le « *quorum-sensing* » est le système par lequel une population de bactéries exprime, de manière coordonnée, un phénotype spécifique en réponse à une densité de population (Novick et Jiang ,2003).

Le pouvoir pathogène du *S. aureus* est dû à l'action combinée de plusieurs composants structurels de la surface des cellules et des enzymes sécrétés et des toxines (figure 10). L'expression des facteurs de virulence du *S. aureus* est contrôlée par des gènes régulateurs différents comme le (*sar*) Staphylococcal accessory regulator (Cheung *et al.* ,1992) ,(Heinrichs *et al.* ,1996) et des systèmes régulateurs à deux composants (Arvidson et Tegmark,2001) ,(Novick ,2003) Comme L'*agr* (accessory gene regulator), (Novick *et al.* ,1993) et le *S. aureus* exoprotein expression locus (*saePQRS*) (Giraud *et al.* , 1999). Ces gènes régulateurs codent pour plusieurs protéines impliqués dans l'expression de plusieurs facteurs de virulence extracellulaires ou de surface d'une manière dépendante de la phase de croissance (Novick et Jiang ,2003).

minute), une anorexie, une dépression profonde, l'arrêt de la rumination et un décubitus. L'évolution est soudaine, le quartier concerné est nettement gonflé, dur et sensible au toucher et provoque de grave boiterie sur le côté affecté.

4.6.3 La mammite gangréneuse

Dans ce cas la mammite aiguë évolue rapidement vers une nécrose du quartier. Une coloration bleutée se développe, qui peut éventuellement s'étendre au plancher de la mamelle et à la totalité ou à une partie du trayon ; dans les 24 heures les zones gangréneuses deviennent noires. La sécrétion est réduite à une petite quantité de liquide séreux sanglant. Les quartiers non affectés sont souvent gonflés et un œdème sous-cutané peut s'étendre à l'avant de la mamelle causé par une thrombose des veines mammaires. Un liseré séparant la partie saine de la partie nécrosée va se creuser rapidement et entraîner la séparation des deux parties. Une odeur nauséabonde assez caractéristique se dégage.

4.6.4 La mammite chronique à *S. aureus*

Les pertes les plus importantes sont causées par la forme chronique ou subclinique de la mammite. Bien que 50% des bovins dans un troupeau peuvent être affectés, seuls quelques animaux présentent des anomalies reconnaissables par le trayeur. De nombreux cas sont caractérisés par une induration qui se développe lentement et une atrophie avec l'apparition occasionnelle de caillots dans le lait ou aqueosité des premiers jets. Le CCS du lait est augmenté, ainsi que les résultats du CMT des quartiers infectés, mais la maladie peut passer inaperçue jusqu'à ce qu'une grande partie de la capacité fonctionnelle de la glande est perdue. L'infection peut persister et la maladie peut progresser lentement sur une période de plusieurs mois.

4.7 Diagnostic

La culture microbiologique des sécrétions mammaires est considérée comme la méthode directe pour le diagnostic des IIM à *S.aureus*. Plusieurs facteurs ont une influence directe sur la détection précise des IIM à *S.aureus*. Ces facteurs sont liés soit à la technique utilisée pour l'échantillonnage et pour la culture ou à la nature et le développement de l'infection staphylococcique. Suite à l'examen bactériologique d'un échantillon de lait, un échec de détection d'une IIM pourrait être dû au faible volume de l'échantillon, à l'absence de croissance en raison de la présence d'agents antibactériens dans le lait ou la présence d'un faible nombre de bactéries dans le lait. A l'inverse, la présence de bactéries peut être faussement diagnostiquée en raison de la contamination au cours des procédures d'échantillonnage ou à cause de la colonisation des canaux des trayons.

4.7.1 Le choix d'échantillonnage et le volume d'inoculum

4.7.1.1 Le choix d'échantillonnage et les CCSs

Différentes souches de *S.aureus* sont associées à des prévalences variables au sein des troupeaux laitiers (Sommerhauser *et al.*, 2003) , Cela laisse supposer qu'il y a une interaction complexe entre la réponse immunitaire de l'hôte, comme en témoigne les CCS et le *S.aureus* qui peut être influencée par le type de la souche. Il est plus évident qu'une grande proportion de vaches dans des troupeaux bien gérés ont une faible numération des cellules somatiques du lait, mais qui sont positifs pour le *S. aureus* (Zecconi *et al.*, 2003). Cela pourrait être le résultat d'infections récemment acquises ou d'une activité pro-inflammatoire réduite de la souche (Middleton *et al.*, 2002), (Zecconi *et al.*, 2006). D'un point de vue pratique, les IIM à *S.aureus* peuvent être moins sévère (c'est à dire à faible CCS), par conséquent le CCS ne peut pas être utilisé en tant que marqueur pour identifier les quartiers infectés. Cela représente un problème potentiel pour les agriculteurs ou les praticiens qui utilisent le CCS comme le seul marqueur pour sélectionner les vaches jugées "suspectes", ou possiblement infectées.

4.7.1.2 L'élimination du *S. aureus*

Logiquement, plus le *S. aureus* est excrété par les vaches infectés, plus probablement les vaches saines seront exposées à cet agent pathogène. Le niveau d'exposition à *S. aureus* provenant des vaches atteintes de mammites est en fonction du taux de son élimination, de la durée de l'IIM à *S.aureus* et du nombre des vaches atteintes (Sears *et al.*, 1990), (Zadoks *et al.*, 2002 a).

4.7.1.3 Le volume de l'inoculum

Selon certaines études, un échantillon de lait unique est suffisant pour diagnostiquer les infections à *S. aureus* (Erskine et Eberhart, 1988), (Buelow *et al.*, 1996). Toutefois, certaines études utilisaient un volume d'inoculum de 100 µl ce qui entraîne une sensibilité plus élevée, tandis que d'autres études utilisaient 50 µl (Deluyker *et al.*, 2005) ou 10 µL (Zadoks *et al.*, 2002a) , (Dingwell *et al.*, 2003).

4.7.1.4 Le moment du prélèvement

Le prélèvement d'échantillons avant la traite a été utilisé comme une procédure traditionnelle dans les études de recherche et les travaux de terrain pour détecter les IIM. Les résultats de l'étude de (Godden *et al.*, 2002) ont démontré que la capacité de détecter le *S. aureus* dans les quartiers présentant une infection intramammaire subclinique, a été maximisée dans les échantillons frais ou congelés collectés avant la traite et dans les échantillons congelés recueillis après la traite.

4.7.1.5 Les échantillons composites

Bien que l'échantillonnage du lait composite puisse être utilisé pour les tests de routine lorsque l'intérêt principal est de déterminer la prévalence de l'infection au niveau de la vache, l'utilisation de ce test dans les programmes de contrôle, où l'identification correcte des vaches infectées est cruciale, devrait être soigneusement évaluée.

4.7.2 Méthodes pour augmenter la précision du diagnostic

Les méthodes classiques bactériologiques pour l'identification du *S.aureus* dans les sécrétions mammaires s'appuient sur l'analyse des caractéristiques phénotypiques et nécessitent une expertise considérable et un temps de travail important et bien que le *S. aureus* peut être présent dans le lait, le nombre d'organismes peut être en dessous du seuil de détection de la méthode employée ou inhibée par les défenses de l'hôte ou les résidus d'antibiotiques. En plus les échantillons du lait peuvent être contaminés lors de la procédure d'échantillonnage et entravent ainsi les conclusions de la culture. Pour surmonter ces problèmes, des méthodes pour augmenter la précision du diagnostic ont été également proposées. Parmi eux, la congélation et la centrifugation sont considérées comme les plus intéressantes. La congélation peut affecter la viabilité des organismes contenus dans les échantillons de lait prélevés pour culture bactériologique mais elle pourrait augmenter la sensibilité de l'essai en favorisant la libération des germes présents à l'intérieur des leucocytes. (Schukken *et al.*, 1989) ont constaté que la présence de *S. aureus* dans des échantillons de lait de mammites subcliniques et cliniques conservés congelés à environ -20°C pendant 04, 06 et 16 semaines ne diffèrent pas significativement. Pour augmenter la concentration du *S. aureus* dans les échantillons de lait et donc de remédier à la faible excrétion, la centrifugation a été proposée (Zecconi *et al.*, 1997). Les résultats ont montré que les cultures du sédiment ont augmenté de manière significative le nombre de résultats positifs en comparaison avec les méthodes conventionnelles.

4.7.3 Méthodes de diagnostic bactériologiques (classique)

Le *S. aureus* est décrits comme un organisme formant des colonies pigmentées, β -hémolytiques fermentant le maltose et le mannitol et coagulase positive. Mais certaines souches ont des caractéristiques qui ne sont pas compatibles avec la description précédente. En effet, certains *S. aureus* sont α -hémolytique, β -hémolytique, $\alpha + \beta$ -hémolytique, δ -hémolytique ou non hémolytique (Zecconi, 2010). La culture du lait sur gélose au sang 5% est toujours la méthode recommandée pour le diagnostic des IIM à *S.aureus*, suivi par une confirmation des colonies suspectes par d'autres méthodes telles que le test-coagulase et les tests biochimiques. Si les milieux sélectifs sont appliqués, il est également recommandé de confirmer toutes les colonies suspectes par d'autres méthodes.

Indépendamment de la méthode appliquée, l'identification d'une seule colonie de *S. aureus* est suffisante pour définir le quartier (la vache) comme infecté (Zecconi , 2010).

4.7.4 Le typage des souches de *Staphylococcus aureus* bovine

Le typage de *S. aureus* est important pour les enquêtes épidémiologiques afin de déterminer les sources d'infection, les voies de transmission lors de flambés de maladies et en cas de présence de souches d'une virulence hétérogène. Le typage peut être phénotypique ou génotypique. Au cours des dernières décennies, plusieurs méthodes génotypiques ont remplacé bon nombre de méthodes phénotypiques traditionnelles. Les résultats génotypiques sont souvent combinés avec les données phénotypiques appropriés, tels que les profils de résistance aux antibiotiques, ce qui est recommandé, par exemple dans l'évaluation épidémiologique de la parenté clonale des isolats (Tenover *et al.*, 1994).

4.7.4.1 Les méthodes phénotypiques

4.7.4.1.1 L'antibiogramme

La détermination de la susceptibilité des isolats à une sélection d'antimicrobiens a été une méthode largement utilisée dans la caractérisation phénotypique des *S. aureus* provenant des cas de mammite bovine (Østerås *et al.*, 2006). Cette méthode peut être utile pour le dépistage initial des souches multirésistantes ou des souches résistantes à un important antibiotique donné, comme la pénicilline. Pour des raisons épidémiologiques cette méthode a un faible pouvoir discriminatoire. En outre, bon nombre de caractéristiques de susceptibilité testées peuvent être très instables en raison de la présence de plasmides extra chromosomiques.

4.7.4.1.2 Le bio typage

En biotypage, les isolats de *S. aureus* sont différenciés par les caractères culturels et biochimiques. Le pouvoir discriminatoire du biotypage est relativement faible. La différenciation des souches de *S. aureus* par séro-typage a été appliquée à des isolats de mammite bovine, visant à développer des vaccins contre les polysaccharides capsulaires (Sordelli *et al.*, 2000). Mais des isolats non-typables sont communs (Tollersrud *et al.*, 2000).

4.7.4.1.3 La lysotypie

En lysotypie, la sensibilité des isolats de *Staphylococcus* à un ensemble standard de bactériophages est testée, elle présente plusieurs inconvénients, ce qui limite relativement son utilisation à des laboratoires de référence (Bannerman *et al.*, 1995). Par exemple, lorsqu'elle est utilisée en cas d'épidémie, le principal inconvénient était la grande proportion d'isolats qui étaient non-typables (Olive et Bean, 1999).

4.7.4.1.4 Multi-locus enzyme electrophoresis (MLEE)

Les résultats de l'étude de (Selander *et al.*, 1986) et de (Kapur *et al.*, 1995) ont indiqué qu'un troupeau laitier peut être colonisé par plusieurs clones distincts de *S. aureus* et bien que

certains clones de *S. aureus* isolés à partir de vaches soient étroitement liés à des isolats humains, beaucoup ne le sont pas, ce qui implique que le transfert réussi de cet organisme entre les humains et les vaches dans des conditions naturelles est limité.

4.7.4.2 Les méthodes génotypiques

4.7.4.2.1. Multilocus sequence typing (MLST)

Elle fournit une nouvelle approche de l'épidémiologie moléculaire qui permet de suivre la propagation globale des bactéries (Turner et Feil., 2007). Les avantages de la MLST sont sa forte puissance discriminatoire, sa reproductibilité et que les résultats peuvent être comparés entre les études et entre les laboratoires. Toutefois, elle a l'inconvénient d'être coûteuse et demande un temps de travail important (Stepan *et al.*, 2004). La MLST a été utilisée dans des études sur la spécificité d'hôte (Herron-Olson *et al.*, 2007) et sur l'épidémiologie globale des clones de *S. aureus* bovins (Smith *et al.*, 2005), (Rabello *et al.*, 2007).

4.7.4.2.2. L'électrophorèse en champ pulse (PFGE)

Hautement reproductible et discriminatoire la PFGE est considérée actuellement comme la méthode de référence et la surveillance coordonnée inter laboratoires a permis le développement de protocoles standardisés (Murchan *et al.*, 2003). La PFGE a été largement appliquée pour le typage des souches bovines de *S. aureus* (Buzzola *et al.*, 2001), (Joo *et al.*, 2001), (Middleton *et al.*, 2002a), (Jørgensen *et al.*, 2005), (Hata *et al.*, 2006), (Aires-de-Sousa *et al.*, 2007), (Peles *et al.*, 2007), (Rabello *et al.*, 2007).

La méthode a été appliquée spécifiquement afin d'étudier l'effet du génotype de *S. aureus* sur la manifestation de la mammitite (Zadoks *et al.*, 2000), (Middleton *et al.*, 2002b), de déterminer l'origine des souches qui causent des mammites (Zadoks *et al.*, 2002b), d'évaluer l'effet du génotype sur la persistance à long terme du *S. aureus* dans les troupeaux laitiers (Anderson et Lyman, 2006), d'évaluer la rémission des cas de mammites causées par *S. aureus* de génotypes différents (Dingwell *et al.*, 2006) et enfin d'étudier les relations génétiques des souches exprimant des déterminants de virulence spécifiques causant une maladie en particulier, comme une intoxication alimentaire (Jørgensen *et al.*, 2005). La PFGE est la méthode de choix pour la comparaison des isolats épidémiologiquement liés.

4.8 Traitement, contrôle et prévention

4.8.1 Les facteurs affectant le succès thérapeutiques

La probabilité de guérison des mammites à *Staphylococcus aureus* dépend des différents facteurs liés à l'hôte, à l'agent pathogène et au traitement.

4.8.1.1 Les facteurs liés à l'hôte

L'augmentation du nombre de lactation a été associée à un taux de guérison plus faible dans pratiquement toutes les études (Barkema *et al.*, 1998) , (Zadoks *et al.*,2001) , Par ailleurs il existe certaines preuves que la prévalence de résistance à la pénicilline parmi les souches de *S.aureus* est plus élevée chez les multiparts par rapport aux animaux en première ou en deuxième lactation (Sol *et al.*, 2000) , (Taponen *et al.*, 2003) .

Le nombre des quartiers infectés est un indicateur important du niveau de guérison chez la vache pendant la période sèche. Avec plus de quartiers infectés on aura de faibles chances de guérison au niveau de la vache et du quartier (Sol *et al.*, 1994),(Osteras *et al.*, 1999). Concernant l'emplacement des quartiers, il a été démontré que les quartiers arrière manifestent des taux de guérison significativement plus faibles. En règle générale, ils présentent des risques d'infection plus élevés (Barkema *et al.*, 1997,1998). On pourrait spéculer que le plus grand volume des quartiers arrières par rapport aux quartiers antérieurs en fait un facteur qui influe sur la guérison.

4.8.1.2 Les facteurs liés aux pathogènes

Dans la plus part des élevages, une seule souche de *S.aureus* prédomine vu la nature contagieuse du germe, mais une coexistence avec d'autres souches est usuellement observée (Zadoks *et al.*, 2000).

In vivo les souches différent dans leur habilités à diffusées entre les troupeaux et dans leurs capacités à incitées des élévation des CCS, de provoquer des mammites cliniques et des infections persistantes (Zadoks *et al.*, 2000) , (Haveri *et al.*,2005 b) ou des pertes de production laitières (Middleton *et al.*,2001).

In vitro, les souches différent dans leurs capacités à résister à la phagocytose (Mullarky *et al.*, 2001), à former des biofilms (Fox *et al.*,2005) et d'envahir les cellules épithéliales mammaires (Hensen *et al.*, 2000a). Pour chacun des caractères étudiés *in vitro*, un effet *in vivo* peut être sollicité. La faculté de survivre à l'intérieur des phagocytes permet de protéger les bactéries des éléments de la réponse immunitaire de l'hôte, l'exception peut-être faite dans le cas d'usage d'antibiotiques à action intracellulaire tels que les macrolides et la faculté de former des biofilms protège les bactéries des réactions immunitaires et des antibiotiques en les rendant inaccessibles (Lammers *et al.*,1999) , (Vasudevan *et al.*, 2003) , (Cucarella *et al.*, 2004).

(Dingwell *et al.*, 2006) ont observé une réponse spécifique des souches à un traitement au tarissement , les infections traitées avec la Tilmicosine ont bien répondu au traitement par

rapport a celles traitées à la Cloxacilline avec une guérison de 74% et 53% des cas respectivement . Les résultats ont démontré que la lignée des isolats de *S. aureus*, tel que déterminé par électrophorèse en champ pulsé, influence de façon significative la probabilité de guérison au cours de la période sèche. Par conséquent, la détermination de la souche prédominante dans un troupeau peut permettre la gestion et le contrôle de l'infection à *S. aureus*.

4.8.1.2.1 La résistance du pathogène aux β - lactamines

Le *S. aureus* présente une résistance à un large éventail d'agents antimicrobiens y compris les désinfectants (Bjørland *et al.*, 2001).

Dans les pays nordiques, la résistance aux antimicrobiens des *S. aureus* responsables de mammites bovine est généralement moins répandue que dans beaucoup d'autres pays. En Norvège et en Suède, la proportion d'isolats résistants à la pénicilline est restée inférieure à 10% (SVARM, 2002) ; (NORM-VET, 2005). Dans le reste de l'Europe, la proportion des isolats résistants à la pénicilline a variée entre 23% (DANMAP, 2003) jusqu'à 69% (Nunes *et al.*, 2007), aux Etats-Unis 38 à 61% (Erskine *et al.*, 2002) et a été signalée à 40% en Argentine (Gentilini *et al.*, 2000). La résistance à la pénicilline est due à l'expression inductible de β -lactamase codée par le gène *blaZ*, ce qui provoque l'hydrolyse de l'anneau β -lactame de la pénicilline. L'échec thérapeutique a été associé à la résistance de la souche de *S. aureus* infectante (Sol *et al.*, 2000 (Taponen *et al.*, 2003). Cependant, la relation n'est pas simple, ce qui pourrait indiquer que d'autres facteurs bactériens pourraient être impliqués dans le phénomène.

L'introduction des antimicrobiens tels que les tétracyclines, les aminosides et les macrolides pour la thérapie mammaire a été accompagné par l'émergence d'une résistance correspondante des souches bovines de *S. aureus* (Myllys *et al.*, 1998). La modification des protéines de liaison à la pénicilline (PBP) a fait que quelques souches de *S. aureus* soient résistantes à toutes les β - lactamines (tableau 02). Cette propriété, appelé résistance à la méthicilline, a été rare chez les isolats bovins de *S. aureus* à ce jour (Monecke *et al.*, 2007) (Moon *et al.*, 2007). L'émergence récente de *S.aureus* résistants à la Vancomycine en médecine humaine a fait du contrôle des infections à *S. aureus* de plus en plus difficile.

Tableau 02 : les β - lactamines utilisées en médecine vétérinaire

Groupe	Antibiotiques
Pénicilline	Ampicilline, amoxicilline, benzyl penicilline, cloxacilline,
Combinaison pénicilline –inhibiteur de β -lactamases	Amoxicilline + acide clavulanique.
Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	Cefadroxile, céfapirine, cephalexine
Céphalosporines de 3 ^{ème} génération	Cefovecine, cefpodoxime, ceftiofur
Céphalosporines de 4 ^{ème} génération	Cefquinome

4.8.1.2.2 Le traitement spécifique des souches

La MLST, fournis des résultats standardisés qui peuvent être comparés entre les laboratoires en utilisant des bases de données qui sont accessibles par l'intermédiaire du Web (Enright et Spratt, 1999). Cette technique a montrée que la majorité des IIM sont causées par un nombre limité de souches de *S.aureus* qui appartiennent à un complexe clonale spécifique (Smith *et al.*, 2005).

La disponibilité de méthodes standards de typage, ouvre le chemin pour rechercher des solutions thérapeutiques spécifiques pour des souches bien identifiées, de sorte que les résultats provenant d'études multiples peuvent être combinés dans une base de données, la connaissance des caractéristiques spécifiques de virulence et des particularités thérapeutiques d'une souche pourrait ensuite être utilisées à des fins de diagnostic, par exemple, proposer des stratégies de traitement ou de gestion spécifiques à une souche donnée.

4.8.1.3 Les facteurs liés aux traitements

Le *S. aureus* est susceptible *in vitro* à plusieurs antimicrobiens, mais les résultats *in vivo* sont souvent décevants. Plusieurs facteurs incluant la capacité du pathogène à survivre à l'intérieur des neutrophiles (Mullarky *et al.*, 2001), de former des variantes petites colonies ou formes L (Brouillette *et al.*, 2004), d'induire la fibrose et de former des micro-abcès (Sordillo *et al.*, 1989), (Erskine *et al.*, 2003) contribuent à l'échec thérapeutiques des infections intra mammaires chroniques à *S. aureus*.

4.8.1.3.1 Les antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites

Pour le traitement des mammites cliniques causées par des *S.aureus* résistants à la Pénicilline, l'Amoxicilline + Acide Clavulanique et la Spiramycine ont été inefficaces (Taponen *et al.*, 2003) et les taux de guérison étaient faibles lors d'un traitement à base de Cefalexine +

Kanamycine, Cefquinome et Céfopérazone administrées par voie intramammaire (Bradley et Green ,2009). Dans l'étude de (McDougall *et al.*,2007) le pourcentage de guérison bactériologique était de 31.8% et de 33.3% après un traitement parentéral avec soit la Tylosine ou la pénéthamate Hydriodide respectivement. Ces résultats étaient influencés par l'âge, la race, la gravité de la mammite, le nombre de quartiers atteints et le nombre de jours post-partum au moment de l'étude.

Pour le traitement des mammites subcliniques en lactation, la guérison bactériologique des quartiers infectés par *S. aureus* été inférieur (31.6%) lors d'un traitement de trois (3) jours avec la Penethamate Hydriodide administré en intra musculaire (Salat *et al.*, 2008) .Alors que pour le traitement des mammites à *S.aureus* au tarissement, l'efficacité de la Tilmicosine et de la benzathine Céphapirine administrées par voie intra mammaire été confirmée (Nickerson *et al.*, 1999), (Dingwell *et al.*, 2003).

4.8.1.3.2 Traitement combiné

Beaucoup de produits semblent être apparus sur le marché, sans soutien de données scientifiques sur l'efficacité. Les spécialités intra mammaires avec des combinaisons de deux ou même trois antimicrobiens ont été introduites en raison de leurs larges spectres et de leurs actions synergiques suggérées. La preuve de leur efficacité contre la mammite clinique à été mise à défaut plusieurs fois et l'action synergique n'a jamais été prouvée *in vivo* (Pyörälä ,2006), ainsi les revendications d'efficacité doivent maintenant être étayées par des données scientifiques.

Dans l'étude de (Taponen *et al.* , 2003) les auteurs ont rapporté un taux de guérison supérieure d'un traitement parentéral et intramammaire combiné (75,6%) à celui d'un traitement parentéral seul (56,1%) malgré qu'ils ne discutaient pas le fait que le traitement intramammaire combiné contenait un composé actif supplémentaire qui n'a pas été inclus dans le traitement parentéral seul (la Néomycine).

4.8.1.3.3 La durée du traitement

Un traitement de longue durée est généralement associé à une probabilité plus élevée de guérison (Owens *et al.*, 1988). Les avantages des protocoles de thérapie étendus donnent des proportions plus élevées de guérison avec une baisse du CCS, une diminution de risque de transmission et une amélioration de la valeur marchande de lait. Ces protocoles doivent être évalués contre plusieurs inconvénients tels que le prix de l'antibiotique, le risque de présence de résidus dans le lait et la possibilité d'infecter la vache par le biais des perfusions répétées *via* le canal du trayon (Gillespie *et al.*, 2002), (Swinkels *et al.*, 2005), (Halasa *et al.* , 2009).

4.8.1.3.4 La voie d'administration

Le plus souvent lorsque le traitement antimicrobien des mammites cliniques et subcliniques est mis en œuvre par les agriculteurs, seul un traitement intra mammaire est utilisé.

Cependant, lors de mammites à *S. aureus*, l'inflammation du tissu mammaire implique le recours à un traitement systémique qui peut avoir un effet bénéfique sur la guérison.

Dans un essai clinique qui comparé l'efficacité de l'Amoxicilline (62.5mg) sous forme d'injections intra mammaire à l'injection intra musculaire de Pénicilline G (9000000 U) plus l'Amoxicilline en intra mammaire sur 78 quartiers de vaches avec des mammites subclinique à *S.aureus*, le pourcentage de guérison été 51% pour l'association Pénicilline G + Amoxicilline, deux (02) fois plus élevé que pour le traitement en intra mammaire seul (Owens *et al.* , 1988). Dans l'étude de (Taponen *et al.*, 2003), un taux de guérison supérieur (75,6%) du traitement parentéral (Pénicilline G) et intramammaire combinée (pénicilline + néomycine) à celui du traitement parentéral seul (56,1%) a été observé. Tandis que pour les infections causées par les souches β -lactamases positives, les taux de guérison étaient relativement faibles (29.2% pour le traitement combiné « Amoxicilline + l'Acide Clavulanique par voie parentérale et un traitement intramammaire contenant Amoxicilline + d'Acide Clavulanique + Prednisolone » et de 33.3% pour les quartiers traités avec la Spiramycine). Ainsi le traitement combiné était supérieur au traitement parentéral seulement pour le groupe β -lactamases négatives.

4.8.1.3.5 Traitement pré partum des génisses

Jusqu'à 97% des génisses sont infectées par des pathogènes de mammites, souvent des mois avant le vêlage. Les agents pathogènes les plus communs sont : le *Staphylococcus Chromogenes*, le *Staphylococcus Hyicus* et *S. aureus* (Trinidad *et al.*, 1990b), (Pankey *et al.*, 1991), (Fox *et al.*, 1995) et dans les études d'Oliver (Oliver *et al.*,1992,1997,2003) le *Streptococcus Uberis* et le *Streptococcus dysgalactiae* été prédominant.

Plusieurs études ont démontré l'efficacité des produits destinés pour le traitement des mammites au tarissement (Owens *et al.*, 1991 , 2001) , (Oliver *et al.*, 2004) , (Sampimon *et al.*, 2009) par rapport aux traitements de lactation (Oliver *et al.*,1992, 2003, 2004), (Borm *et al.*, 2006) , ces auteurs ont suggéré que le traitement des génisses gestantes avec un produit pour vaches tarées est avantageux parce que:

- le taux de guérison est plus élevé que durant la lactation en particulier contre le *S.aureus*,
- il n'ya pas de pertes de lait pendant le traitement,
- le risque de résidus d'antibiotiques est minime,
- le CCS au moment du vêlage est réduit et la production de lait est augmentée d'environ 10% chez les animaux traités avec succès dans certains troupeaux.

4.8.1.3.6 Les Traitements alternatifs

Plusieurs remèdes non traditionnels ont été testés en tant que traitement pour la mammites à *S.aureus*. L'intérêt pour les traitements dits alternatifs est stimulé par l'efficacité limitée des antibiotiques conventionnels, les préoccupations concernant le développement de la résistance

aux antimicrobiens en raison de l'utilisation abusive des antibiotiques dans l'industrie laitière et la croissance du secteur des produits laitiers biologiques qui restreint ou interdit l'utilisation d'antibiotiques.

In vitro, la combinaison de la pénicilline G avec la lactoferrine bovine a augmenté l'effet antibactérien contre le *S. aureus* (Diarra *et al.*, 2002). La nisine, un polypeptide antimicrobien produit par *Lactococcus lactis*, inhibe *in vitro* la croissance du *S. aureus* (Broadbent *et al.*, 1989) alors que l'utilisation des cytokines dans l'immunothérapie des mammites à *S. aureus* n'est pas efficace comme traitement autonome mais ils peuvent améliorer les effets bactéricides de certains antibiotiques (Alluwaimi, 2004).

4.8.2 Le contrôle des mammites à *S. aureus*

Les programmes de lutte contre le *S. aureus* doivent être fondés sur quelques points importants tels que l'isolement ou le retrait des réservoirs, l'élimination des vecteurs passifs et potentiellement ils devraient inclure les mesures visant à améliorer la réponse immunitaire de l'hôte. Le *S. aureus* est un pathogène mammaire contagieux, il est rarement associé à des sources environnementales et les autres espèces d'animaux non laitiers ne semblent pas être des vecteurs fortement impliqués dans la transmission de la maladie. L'élimination des sujets infectés et la prévention de l'introduction de nouveaux animaux malades dans un troupeau laitier doivent être des stratégies de biosécurité suffisantes pour éradiquer ce pathogène de la plupart des élevages. En effet, de nombreux troupeaux qui ont eu recours à des pratiques strictes d'hygiène de traite et d'utilisation judicieuse d'antibiotiques ont éradiqué ou presque tous les cas de mammites à *S. aureus*. Pourtant, malgré l'application de ces mesures, des problèmes peuvent se développer pour différentes raisons telles que: le climat particulièrement froid, la présence de lésions sur la peau du trayon, l'introduction de nouvelles souches de *S. aureus* et quand les génisses sont élevées hors site. Ces défaillances dans le contrôle complet de la mammite à *S. aureus* peuvent être liées à la capacité du micro-organisme à coloniser des sites multiples sur le corps puis se propager vers l'extrémité du trayon et provoquer des mammites.

4.8.2.1 L'isolement et l'élimination des réservoirs

4.8.2.1.1 La ségrégation

Les programmes de contrôles fondés sur la ségrégation ont suivis les principes généraux de contrôle de la mammite contagieuse et étaient fondés sur des procédures précises de diagnostic et de contrôle strict de la séparation des vaches infectés. Les principales étapes du programme de contrôle tel que proposé par (Zecconi *et al.*, 2003) sont les suivants:

- l'application d'une procédure de traite précise et constante qui comprend l'utilisation d'une seule serviette par vache pour nettoyer les trayons et le trempage de ces derniers dans des solutions désinfectantes avant et après la traite.

- la mise en place d'une séquence de traite pour réduire le risque d'infection, par la traite des vaches primipares en bonne santé en premier, suivi par les vaches multiparts en bonne santé, puis les vaches récemment introduites dans le troupeau, puis la traite des vaches avec des IIM à *S. aureus* en dernier ,
- Après le premier échantillonnage de toutes les vaches en lactation au moment de l'inclusion pour séparer les sujets infectés, un programme d'échantillonnage précis doit être utilisé. Toutes les vaches achetées doivent être échantillonnées 7 et 14 jours après l'entrée dans le troupeau et les vaches qui ont récemment vêlées doivent être échantillonnées 7 et 14 jours après le vêlage ; les vaches avec des IIM à *S. aureus* sont séparées et ne sont pas échantillonnées à nouveau jusqu'à ce qu'elles vèlent et les vaches non infectées sont échantillonnées à nouveau 2, 4, 7, 10, 14 et 18 mois après l'échantillonnage initial,
- Le diagnostic des IIM est effectué avec des échantillons de lait de quartier par culture bactériologique sur une gélose au sang 5%. Tous les quartiers de toutes les vaches sont traités au tarissement avec un produit antimicrobien du commerce dont le choix est basé sur la sensibilité des souches de *S. aureus* isolées dans le troupeau tel que déterminé par l'utilisation de la méthode de diffusion de disque ,
- Le traitement des vaches en lactation infectées sans signes cliniques est restreint à celles qui ont moins de 03 lactations et dans leurs 30 premiers jours de lactation, Ces vaches sont déplacées vers un enclos ou un hôpital vétérinaire et échantillonnées 5-7 jours et 10-14 jours après la fin du délai d'attente des antimicrobiens ; seules les vaches qui sont jugées guéries en raison des résultats négatifs de 02 cultures bactériologiques consécutives sont autorisées à quitter l'enclos.
- Les traitements antimicrobiens et anti-inflammatoires sont administrés aux vaches qui ont développées des mammites cliniques, indépendamment de leur état d'infection par *S. aureus*, ces vaches doivent être déplacées à un hôpital et échantillonnées 7 et 14 jours après la fin du temps d'attente. Seules les vaches considérées guéries sont autorisées à quitter l'hôpital pour revenir au groupe d'origine.
- Au niveau du troupeau, les gestionnaires d'exploitations agricoles sont invités à améliorer et à maintenir une hygiène appropriée de la litière.

Le programme de contrôle est surveillé directement par le biais de visites mensuelles par un praticien formé et par la discussion des résultats d'analyse et indirectement par une vérification hebdomadaire des échantillons envoyés au laboratoire, pour assurer la conformité.

La ségrégation a été appliquée pendant de nombreuses années pour éradiquer les IIM dues à *Str. Agalactiae* et elle a permis la réduction de la prévalence de ce germe dans le monde entier. Toutefois, la ségrégation seule n'est pas suffisante et des mesures supplémentaires sont nécessaires, cela peut être l'une des raisons qui expliquent l'application à faible échelle de ce programme de control pour le *S.aureus*, en plus de la moindre efficacité des traitements antibiotiques et la sous-estimation de l'impact économique des IIM due à *S.aureus*.

4.8.2.1.2 L'abattage

L'abattage est considéré comme un recours final pour éliminer les vaches avec des infections chroniques à *S. aureus*, malgré l'absence d'une évidence scientifique tant sur son efficacité que sur sa rentabilité économique.

4.8.2.2 L'interruption des voies de contamination

4.8.2.2.1 L'hygiène de la traite

L'importance de l'hygiène de traite est bien connue et les recommandations les plus importantes à appliquées pour contrôler les IIM à *S.aureus* sont :

- le port de gants par les trayeurs,
- l'utilisation des serviettes uniques pour nettoyez les trayons,
- un réglage convenable de la machine (niveau de vide, pulsations, débit, pompe à vide, entrées d'air) et une surveillance du temps de traite qui ne doit pas excéder sept minutes et la dépose en un seul temps de la griffe pour ne pas créer d'appel d'air,
- la désinfection des trayons à la fin de la traite par un produit d'efficacité connue.

4.8.2.2.2 La surveillance de l'état des trayons

Les procédures de traite ont un impact significatif sur l'intégrité de la peau du trayon, qui est considérée et reconnue comme l'un des facteurs important pour réduire le risque de nouvelles infections. La peau du trayon peut être altérée par différents facteurs comme le climat (Burmeister *et al.*, 1998) ou les désinfectants (De vlieghe *et al.*,2003). L'appréciation de l'état de la peau du trayon est utile pour évaluer les risques de mammites au sein d'un troupeau et parmi les méthodes les plus utilisées pour l'examiner est le score visuel (De vlieghe *et al.*,2003). La peau du trayon est capable d'inhiber la croissance des micro-organismes, mais quand elle est traumatisée (abrasions, brûlures...) elle est plus vulnérable aux infections et dans certains cas l'utilisation même de désinfectants au moment de la traite peut favoriser l'irritation et l'apparition de gerçures ce qui facilite la colonisation par le *S. aureus* (Fox et Norell ,1994).

4.8.2.2.3 La désinfection des trayons

Le trempage ou la pulvérisation des trayons est une procédure importante pour lutter contre le *S.aureus*. Il est impératif d'utiliser des préparations qui contiennent des agents émoullients et hydratants dont l'importance est très souvent sous-estimée. Les crèmes et les pommades sont des

exemples des émoullients tandis que la glycérine et le propylène glycol sont des humidifiants. Ses substances permettent de garder la peau humide et pliable, ce qui favorise sa résistance à l'action des germicides ou substances actives présentes dans le produit désinfectant.

4.8.2.2.4 Maîtrise des contaminations hors traite

La propreté de la mamelle doit être préservée dès la sortie de la salle de traite. Les vaches ne doivent pas être exposées immédiatement à la litière des logettes ou de l'aire de couchage. Le temps que le canal du trayon se referme, elles restent debout sur l'aire de promenade, raclée de préférence. Elles y sont retenues par la distribution de l'aliment et éventuellement par un fil de séparation avec la zone paillée. (Sommerhauser *et al.*, 2003).

4.8.2.3 La vaccination

Malgré plusieurs essais de vaccination menés avec succès avec différents vaccins commercialisés (Middleton *et al.*, 2006), (Leitner *et al.*, 2003d) et non commercialisés (O'Brien *et al.*, 2001), (Lee *et al.*, 2005) (tableau 03) tous les épreuves sur le terrain avec ces vaccins ont été infructueuses. Il s'agit notamment de vaccins développés à partir de souches de *S. aureus* vivantes atténuées (Fox et Hancock, 1989) ou tuées, les toxines (hémolysines α et β), le polysaccharide capsulaire, la protéine A et les protéines de liaison à la fibronectine (Calzolari *et al.*, 1997), (Watson, 1992). La vaccination avec des cellules autogènes bactériennes entières et des fractions spécifiques d'antigène ne suscitent pas une protection hétérologue (Yancey, 1999), (O'Brien *et al.*, 2001), (Rivas *et al.*, 2002), (Leitner *et al.*, 2003b), (Sears, 2002). Cependant, les essais avec des vaccins contenant des facteurs antigéniques combinés (O'Brien *et al.*, 2000) à partir des composants de surface se sont révélés prometteurs si l'antigène, l'adjuvant et la voie d'administration sont appropriées.

Les principaux problèmes qui affectent la réussite du développement de vaccins contre la mammite bovine à *S. aureus* sont la variation des souches, la présence d'un polysaccharide capsulaire dans la plupart des souches pathogènes qui ne permet pas la reconnaissance des anticorps par les cellules phagocytaires, la dilution des effecteurs du système immunitaire dans le lait (Yancey, 1999), (Guidry *et al.*, 1994), l'interaction entre les composants du lait et des effecteurs immunitaires (Russell *et al.*, 1997) qui réduisent leur efficacité, ainsi que la capacité de *S. aureus* à se fixer et de s'internaliser dans les cellules épithéliales mammaires.

Il y a un besoin croissant pour le développement de meilleurs vaccins qui permettent de surmonter ces problèmes. Une meilleure compréhension des défenses immunologiques naturelles et acquises de la glande mammaire associée à une connaissance détaillée de la pathogénie de *S. aureus* devrait conduire à la mise au point de meilleures méthodes de réduction de l'incidence de la mammite chez les vaches laitières.

Tableau 03 : les vaccins testés contre le *S.aureus* provoquant des mammites bovines

Vaccin contre <i>S.aureus</i>	Type de vaccin	Effets immunologiques	Références
lysats de cellules entières de <i>S. aureus</i> encapsulés dans des microsphères biodégradables	Lysat de cellules entières	induits des anticorps qui étaient plus opsonisants pour les neutrophiles et inhibe l'adhérence à l'épithélium mammaire	(O'Brien <i>et al.</i> ,2001)
Lysat cellulaire total à partir de deux souches (α et β hémolytique) ainsi que les surnageants de souche non hémolytique	Lysat cellulaire entier à partir de deux souches	Les vaches vaccinées étaient protégées à 70% contre l'infection comparés à moins de 10% chez les vaches témoins	(Leitner <i>et al.</i> ,2003a)
MASTIVAC I	Lysat de cellules entières	une protection spécifique contre l'infection à <i>S. aureus</i>	(Leitner <i>et al.</i> ,2003c)
<i>S. aureus</i> vivant pathogène par voie IM	<i>S. aureus</i> vivant	Induire l'activation des cellules immunitaires de la glande mammaire et du sang.	(Rivas <i>et al.</i> ,2002)
Fibronectin binding protein et le clumping factor A	vaccin à ADN + protéines recombinantes (<i>FnBP</i> et <i>CIfA</i>)	Induit des réponses immunitaires cellulaires et humorales qui assurent une protection partielle contre <i>S. aureus</i>	(Shkreta <i>et al.</i> ,2004)
La protéine A de <i>S. aureus</i> associées à une protéine fluorescente verte	ADN	réponses immunitaires induites humorales et cellulaires	(Carter <i>et al.</i> ,2003)
Plasmide codant pour l'antigène bactérien β -gal	ADN	réponses immunitaires induites humorales et cellulaires	(Shkreta <i>et al.</i> ,2003)
bactérine Polyvalente de <i>S. aureus</i>	Protéine	Elimine certaines infections intramammaires chroniques à <i>S. aureus</i>	(Smith <i>et al.</i> ,2006)
Lysigin® lysats issus de 05 souches de <i>S. aureus</i> exprimant les 03 types de capsules polysaccharidiques (5,8 et 336)	Bactérine	Lysigin réduit la sévérité et la durée clinique de la maladie. Aucune des bactérines expérimentales n'a un effet significatif.	(Middleton <i>et al.</i> , 2006)
bactérine de <i>S. aureus</i> Polyvalente associée à une antibiothérapie	Bactérine	taux de guérison augmenté d'infection intramammaire due à <i>S. aureus</i>	(Luby et Middleton,2005)

vaccin trivalent contenant du matériel capsulaire polysaccharidique de <i>S.aureus</i> type 5 (T5), 8 (T8) et 336 (T336) avec l'adjuvant incomplet de Freund (AIF) et l'hydroxyde d'aluminium	Lysat de cellules entières	A suscité des réponses anticorps spécifiques pour les 3 polysaccharides capsulaires (augmentation IgG1 et IgG2 chez tous les animaux vaccinés	(Lee <i>et al.</i> ,2005)
CP conjugué à une protéine et incorporé dans des microsphères de poly (DL-lactide-coglycolide) émulsifiée dans l'adjuvant incomplets de Freud	capsulaire polysaccharidique types 5, 8 et 336	Les vaches dans les deux groupes ont produit des concentrations accrues d'anticorps IgG1, IgG2, et aucune augmentation des IgM.	(O'Brien <i>et al.</i> ,2000)
polysaccharide-protéine conjugués émulsifié dans l'adjuvant incomplet de Freund	protéine et polysaccharide Conjugué	Les sérums de vaches immunisées avec les conjugués dans des microsphères ont induit une augmentation soutenue de la phagocytose. Les sérums de ces deux groupes ont diminué l'adhérence des bactéries aux cellules épithéliales mammaires bovines.	

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Matériel et méthodes

1.1 Description de la zone d'étude

La wilaya de Bordj Bou Arreridj se situe au Nord - Est du pays. Elle est délimitée au nord par la wilaya de Béjaïa; à l'Ouest, par la wilaya de Bouira; au Sud, par la wilaya de M'Sila ; à l'Est, par la wilaya de Sétif; elle est située sur le territoire des Hautes plaines, à cheval sur la chaîne de montagne des Bibans. La wilaya est constituée de trois zones géographiques qui se succèdent :

- une zone montagnaise, avec au nord, la chaîne des Bibans
- une zone de hautes plaines qui constitue la majeure partie de la wilaya
- une zone steppique, au sud-ouest, à vocation agropastorale.

L'altitude varie entre 302 m et 1885 m. La wilaya se caractérise par un climat continental, qui offre des températures chaudes en été et très froides en hiver, parmi les plus basses d'Algérie. La pluviométrie annuelle est de 300 à 700 mm.

Le nombre d'éleveurs dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj est de 3410 dont 1700 adhérents au programme FNRPA possédants soit des agréments ou des identifications sanitaires, répartis sur 08 subdivisions agricoles totalisant un effectif de 9800 vaches laitières.

La quantité de lait collecté durant l'année 2011 à connue une évolution conséquente (41 798 667 litres), grâce notamment à la présence d'un important réseau de collecte « 23 collecteurs » (Statistiques DSA, 2011).

La présente étude était réalisée au niveau de la subdivision agricole de Ras El Oued, bassin laitier de la wilaya dont l'élevage constitue un patrimoine important au regard de son effectif et de sa production, le nombre d'éleveurs est de 791 tandis que l'effectif bovin est de 4322 dont 2665 vaches laitières (Statistiques DSA, 2011).

1.2 Exploitations et animaux

Dans le cadre du dépistage des mammites subcliniques ; douze exploitations bovines laitières ont été sélectionnées dans la région de Ras El Oued Wilaya de Bordj Bou Arreridj (Figure11). Parmi ces exploitations, 144 vaches en lactation de race Montbéliarde (82), Fleckvieh (40), Pie noire (20) et Pie rouge -Holstein (2) ont été investiguées.

Les animaux étaient en stabulation entravée dans tous les élevages et étaient à différents stades de lactation, le rang moyen de mise bas était de 2.67.

Ces élevages ont été retenus sur la base des critères suivants :

- L'accord des éleveurs pour nous accueillir pour réaliser les prélèvements,
- Aucun animal n'a été traité durant une période d'au moins 3 semaines précédant l'étude.

Tous les élevages ont été visités une seule fois. Les pratiques de gestion, les conditions de logement et la conduite et l'hygiène de la traite ont été évaluées et documentées dans une base de

donnés standard. L'objectif de cette enquête était d'étudier les facteurs ayant une répercussion sur la santé de la glande mammaire (annexe 1).

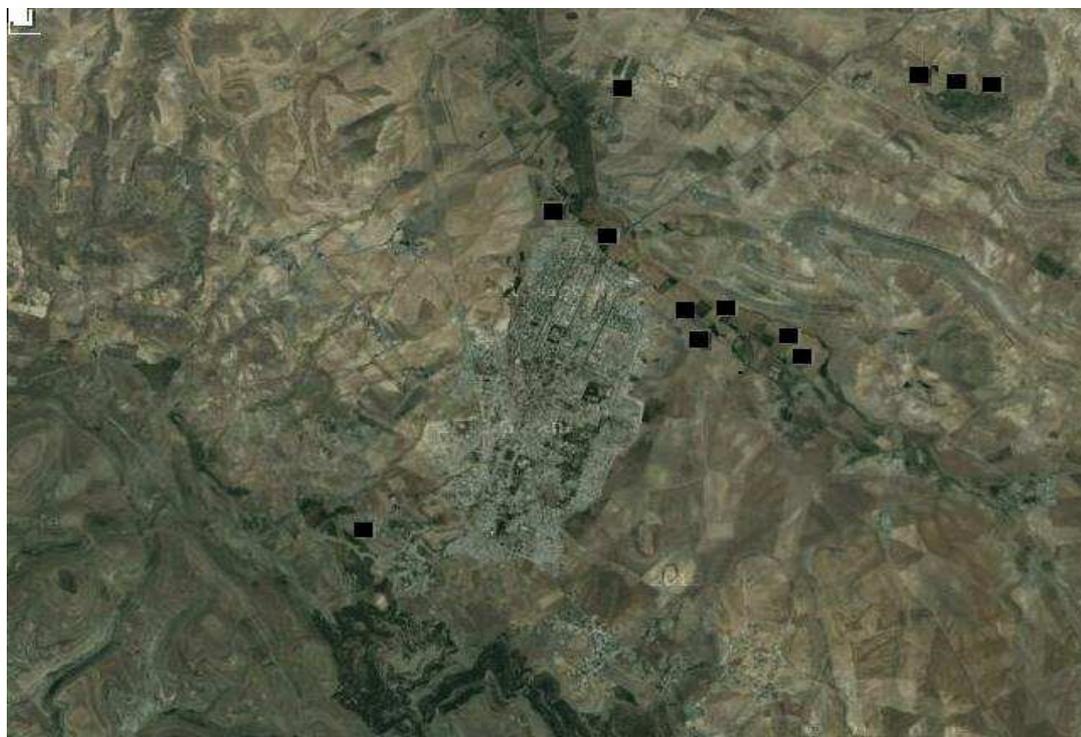
Pour le diagnostic des mammites cliniques, 22 prélèvements étaient fournis par 04 praticiens vétérinaires privés installés sur le territoire de la subdivision agricole de Ras El Oued - Wilaya de B.B.Arreridj. Pour chaque cas, le vétérinaire devait noter les circonstances du prélèvement et les observations cliniques. Ainsi, les critères à renseigner ont été :

- La date de la mammite,
- La race,
- Le numéro de lactation,
- Le stade de lactation.

Pour les données cliniques :

- La température rectale,
- L'aspect du lait,
- L'aspect du quartier,
- La production laitière du quartier par rapport à la normale,
- L'état général de la vache (annexe 2).

579 prélèvements de quartiers de vaches atteintes ou non de mammites, ont été collectés sur une période de 5 mois (de Septembre 2011 à Janvier 2012).



■ Élevages

Figure 11 : Image satellite (subdivision de Ras El Oued) montrant la localisation des 12 exploitations laitières incluses dans le cadre de dépistage des mammites subcliniques

1.3 Enquête épidémiologique

1.3.1 Bâtiment d'élevage

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux des mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer quels sont les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires.

Les scores d'hygiène du Pis et des cuisses ont été évalués et recueillis en utilisant une échelle de 5 points (figure 12) comme décrite par (Faye et Barnouin, 1985). Les notes attribuées à chaque zone varient de 0 à 2, selon le barème suivant :

0 : Pas de souillures.

0,5 : Quelques souillures peu étendues.

1 : Souillures étendues recouvrant moins de la moitié de la surface observée.

1,5 : Souillures étendues recouvrant plus de la moitié de la surface observée.

2 : Zone totalement souillée ou recouverte d'une croûte épaisse.

Notes				
0	0,5	1	1,5	2
				
				

Figure 12 : L'appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse d'après (Faye et Barnouin ,1985)

L'interprétation des résultats se fait en attribuant à chaque animal la somme de 2 notes et de faire la moyenne de toutes les valeurs ainsi obtenues, ensuite diviser cette somme par le nombre d'animaux observés et comparer la valeur finale aux références suivantes :

Note moyenne obtenue	Appréciation de la propreté de l'étable
0 - 1	Stabulation propre
1,5 - 2,5	Stabulation sale
3 - 4	Stabulation très sale

La note moyenne de saleté dans les élevages varie de 1.5 à 3, traduisant des stabulations sales qui ne répondent pas aux recommandations dimensionnelles et d'ambiances standard (voir annexe 4).

Les élevages de la zone étudiée ont présentés certaines caractéristiques. Parmi les diverses exploitations étudiées quatre seulement d'entre-elles disposaient d'hangar pour loger les animaux et le reste étaient des constructions en dure avec des toitures en dalle dont l'état est plus au moins dégradé (plateforme crevassé, absence de revêtement et fissuration des murs,...). Toutes ces exploitations n'étaient pas conformes aux exigences zootechniques.

Tous les animaux de ces exploitations étaient en stabulation entravée et 07 élevages sur 12 disposaient d'aire d'exercice (tableau 04).

La paille comme litière exclusive était utilisée presque par tous les éleveurs (10/12) mais en quantités très insuffisantes, par contre elle était utilisée pour l'alimentation des animaux. Cette litière, généralement peu abondante et mal entretenue (sale, humide), à cause de son chargement et renouvellement peu fréquents, perd son rôle de confort thermique. Dans de telles conditions, les mamelles sont en contact direct avec le plancher qui est à l'origine des lésions du corps du trayon qui peuvent devenir le siège de prédilection pour les germes dangereux (Sérieys et Brouillet ., 2007) (tableau 04).

La majorité des exploitations offraient des surfaces de couchage suffisantes à leurs animaux (75%) mais sont insuffisamment aérées et illuminées. Ces défaillances étaient principalement dues selon les cas, au nombre réduit des ouvertures, à leurs petites dimensions, à leurs mauvaises répartitions, ou à la faible hauteur sous toiture (tableau 04).

Tableau 04 : Caractéristiques des bâtiments d'élevage

Conditions de logement	Observations	Exploitations
Vocation du bâtiment	hangar	4
	habitation (toiture en dalle)	8
	bergerie	0
Type de stabulation	entravée	12
	libre	0
	à logette	0
Aire d'exercice	présence	7
	absence	5
Orientation	est-ouest	8
	nord-sud	4
Aération	ouvertures bilatérales	1
	ouvertures unilatérales	4
	Pas d'ouvertures	7
Luminosité	suffisante	2
	insuffisante	10
Surface de couchage Utile par vache	suffisante	9
	insuffisante	3
Nature de la litière	paille	9
	copeaux de bois	0
	sable	0
	paille+copeaux de bois	3
Quantité de litière	suffisante	0
	insuffisante	12
Désinfection du bâtiment	une fois par an	6
	deux fois par an	0
	aucune désinfection	6
Box de vêlage	présence	4
	absence	8

1.3.2 Conduite et hygiène de la traite

1.3.2.1 L'organisation et la préparation de la traite

Les données relatives à la conduite et l'hygiène de la traite ont été recueillies lors de notre visite en interrogeant le propriétaire d'élevage et en assistant à toutes les étapes de la traite (tableau 05).

La moitié des éleveurs de l'échantillon étudié, pratiquaient la traite manuelle, les règles générales d'hygiène n'étaient pas respectées par les travailleurs. Le port d'une tenue vestimentaire propre lors de la traite et le lavage rigoureux des mains avec l'eau courante et le savon n'étaient guère pratiqués, ce dernier geste se limitait au simple rinçage des mains avec de l'eau réservée au nettoyage des trayons.

Le nettoyage de la mamelle avant la traite était systématique pour tous les élevages; cela s'effectuait avec de l'eau uniquement et parfois quelques gouttes de Javel sans retirer totalement la saleté. L'eau du lavage était souvent froide et de mauvaise qualité. En outre, nous avons constaté que 07 éleveurs pratiquaient le nettoyage à mains nues et quelques soit l'outil utilisé lors du nettoyage, il était d'ordre collectif dans tous les élevages.

Le personnel ne procédait jamais à l'essuyage des mamelles et la traite ne se faisait pas rapidement après le lavage des trayons, dans quelques élevages un travailleur lave tous les vaches avant même que le trayeur procède à la traite de la première vache, en effet les gobelets, doivent être branchés dans les 30 secondes suivant la préparation des trayons en sachant que l'effet physiologique de l'ocytocine est maximal au bout de 3 à 5 minutes (demi-vie de 2 minutes).

Tableau 05 : Procédures effectuées durant la traite

	Observations		Exploitations	
Type de traite	Chariot		7	
	Manuelle		5	
Hygiène des trayeurs	Le port des gants	Oui	0	
		Non	12	
	Nettoyage des mains avant la traite	Oui	8	
		Non	4	
Préparation des vaches	nettoyage des trayons avant la traite	Oui	Essuyage à sec	0
			bain de trayon prétraite	0
			À l'eau	5
			Eau avec désinfectant	7
			lavettes	0
		Non		
	Outil de nettoyage des Trayons	Une serviette en tissus par vache		
		Une serviette en tissus pour plusieurs vaches		4
		Mains nues		7
		Eponge		1
	Essuyage	Oui	Serviettes individuelles	
			Serviettes collectives	1
		Non		11
	nettoyage des serviettes réutilisables en tissu ou lavettes	oui	Entre chaque traite	0
			Une fois par jour	2
			Autre	1
Non			9	
Intervalle début de traite- Préparation de la mamelle	30 secondes		0	
	01 à 02 minutes		7	

1.3.2.2 Techniques de traite

Nous avons constaté que dans 08 élevages le temps de traite se situait entre 05 et 07 minutes, tandis que dans 04 élevages le temps dépassait les 07 minutes ce qui est considéré comme relativement long. Cet allongement est principalement dû :

- A la mauvaise préparation de la mamelle,
- Au manque d'expérience et la non familiarisation de certains éleveurs avec l'utilisation de la machine à traire et donc sa mauvaise manipulation (pose tardive des gobelets trayeurs, mal positionnement de la griffe se qui favorise les agressions sur les trayons et les entrées d'air).

Durant l'observation des pratiques de traite, nous avons constaté de nombreux glissements des manchons sur les trayons. Ce problème va occasionner une entrée d'air dans les manchons qui va créer un brouillard constitué de lait et d'air qui pourra entraîner les bactéries présentes dans les manchons et les tuyaux courts à lait vers les autres trayons (phénomène d'impact). À la fin, chez tous les éleveurs, la traite n'est terminée qu'après un égouttage manuel (Tableau 06).

En ce qui concerne l'hygiène de la mamelle après la traite, seulement 02 éleveurs réalisaient un post-trempe. Le premier objectif de cette opération est de désinfecter le trayon contaminé par le manchon trayeur. Son application doit donc être réalisée sur l'ensemble de la surface du trayon et non pas sur son extrémité (Tableau 06).

Lorsque l'on interroge les éleveurs pour savoir selon eux, quels sont les signes d'une mammite clinique, tous citaient les principaux caractères pour l'identifier à savoir : la chaleur et la rougeur du quartier ainsi que la modification de la sécrétion lactée.

L'élimination des premiers jets n'était pas systématique et lorsqu'elle était réalisée elle se faisait sur la litière et la lumière n'était pas assez suffisante pour réaliser une observation efficace.

La Palpation des quartiers et des trayons avant la traite était réalisée par tous les éleveurs, alors quand fin de traite cette pratique n'était effectuée que par 03 éleveurs seulement; ainsi une meilleure sensibilisation de ces derniers semble s'imposer dans l'optique de détecter la présence d'éventuels nodules (Tableau 06).

Les vaches infectées étaient repérées visuellement, cela s'explique par le fait que toutes les stabulations sont du type entravée et que la taille des troupeaux est relativement réduite, ainsi les éleveurs ne trouvaient pas utile de séparer les vaches malades ou les identifiées à l'aide d'un brassard (Tableau 06).

Tableau 06 : Procédures effectuées durant et à la fin de la traite

	Observations		Exploitations	
Le temps moyen de traite par vache	Entre 5 et 7 minute		8	
	>7minute		4	
Stabilité des manchons	Glissement		4	
	stable		3	
Égouttage	Oui	Massage du pis à la main	12	
		Manipulation de la griffe	0	
	Non		0	
Utilisation d'un bain de trayon post-traite	Oui		2	
	Non		10	
Détection des mammites lors de la traite	Elimination des premiers jets	oui	Dans une tasse filtre	
			Sur le plancher sous les vaches	8
		Sur les mains des trayeurs		
	Non		4	
	Palpation des quartiers et des trayons avant la traite	oui		12
		Non		0
	Palpation des quartiers en fin de traite	oui		3
		Non		9
Gestion des animaux atteints de mammites lors de la traite	Identifications des Vaches sous traitement	oui	Isolées des autres vaches	2
			A l'aide du numéro d'identification	2
		Identification visuelle	8	
	non			
Traire les vaches qui ont une mammite clinique en dernier ou sur un circuit de traite spécifique	Oui		12	
	non		0	

1.3.3 Traitement et surveillance

Pour les vaches en lactation, tous les éleveurs utilisaient comme traitement de première intention des mammites cliniques des antibiotiques et un seul parmi eux utilisait une préparation homéopathique comme première démarche et un traitement médical comme 2^{ème} démarche lors d'échec (persistance des signes cliniques). Ces traitements étaient effectués durant 01 ou 02 jours chez 75% des éleveurs et seulement 42% appliquaient les 04 injections, d'où la récurrence et le passage à la chronicité.

L'administration intramammaire expose la glande à un risque supplémentaire d'infection dont les nocardioses et les mycoses. Aussi il est indispensable de respecter un protocole de traitement strict : après traite complète du quartier, nettoyer le trayon, désinfecter l'orifice avec un tampon imbibé d'alcool à 70° ensuite injecter l'antibiotique.

Une minorité d'éleveurs désinfectaient le bout du trayon avant l'infusion d'antibiotique et aucun n'appliquait un trempage ou une pulvérisation d'antiseptique après l'utilisation des injecteurs intramammaires.

L'utilisation régulière du test CMT et le prélèvement d'échantillons de lait pour bactériologie étaient des pratiques totalement méconnues par les éleveurs (tableau 07).

La CCS (concentration de cellules somatiques) du lait de vache est un caractère d'importance économique majeure chez les bovins laitiers parce qu'il peut être utilisé comme un indicateur d'infection mammaire. Des modèles multiples ont traditionnellement été utilisés pour déduire les relations entre le rendement en lait et la CCS dans des applications pour l'évaluation génétique des animaux pour ce caractère (Jamrozik *et al.*, 2010).

En Algérie, à ce jour, aucun laboratoire n'est doté d'une méthode fiable et reconnue pour l'évaluation de ce paramètre. Actuellement, le lait est payé en fonction (I) du taux de matières grasses, (II) du point de congélation et occasionnellement en fonction (III) des résidus d'antibiotiques. Le 1^{er} critère reflète la nature de l'alimentation, le 2^e permet de vérifier si le mouillage est pratiqué et le 3^e critère, appliqué dans certaines laiteries seulement, permet, le cas échéant, de ne pas utiliser le lait pour sa transformation fromagère (Kebbal *et al.*, 2008).

Tableau 07 : Traitement et suivi sanitaire

	Observations		Exploitations
Modalités de traitement	Un antibiotique		12
	Préparation homéopathique		1
	Préparation phytothérapique		-
	Autre		-
Fréquence de traitement d'un quartier atteint d'une mammite	1-3		7
	4		5
Durée moyenne de traitement (jour)	1		2
	2		7
	3		3
Désinfection du bout du trayon avant infusion d'antibiotique	Oui		2
	Non		10
Application d'un bain de trayon après l'infusion d'antibiotiques	Oui		-
	Non		12
Surveillance de la santé du pis	Utilisation régulière du test CMT	oui	-
		non	12
	Prélèvement des échantillons de lait pour bactériologie	oui	-
		non	12

1.3.4 Étude de la réalisation pratique du tarissement

Pour la réalisation pratique du tarissement 11 éleveurs mettaient leurs vaches à la diète une semaine avant d'arrêter la traite, à savoir qu'elles n'avaient accès qu'à du foin et de l'eau durant cette période, tandis qu'un seul réalise un arrêt de la traite de façon brutal (Tableau 08).

Seulement un seul éleveur isolait les animaux taris du reste du troupeau, c'est une proportion problématique car l'isolement de la vache tarie de ces congénères est essentiel pour assurer un bon séchage de la mamelle. En effet l'isolement permet de soustraire la vache aux stimuli de l'éjection du lait. Cette mesure est difficilement applicable dans les exploitations possédant des stabulations de type entravé avec un seul bâtiment d'élevage.

Seuls 50 % procédaient à un traitement systématique au tarissement, par voie intra mammaire.

Tableau 08 : Conduite du tarissement

Le tarissement	Arrêt de la traite	Brutal		1
		Par traite intermittente		11
	Isolement des vaches tarées	Oui		1
		Non		11
	Traitement au moment du tarissement	oui	Systématique	6
			Sélective	-
		Non		6

1.4 Prélèvements

La collecte appropriée des échantillons de lait est d'une importance primordiale pour l'identification des pathogènes de la mammite. Une technique aseptique est une nécessité absolue lors de la collecte des échantillons de lait pour éviter la contamination par des organismes trouvés sur la peau des vaches, le pis et les trayons ou sur les mains du manipulateur.

Pour le diagnostic des mammites subcliniques; les échantillons prélevés quartier par quartier ont été collectés juste avant la traite du soir selon les procédures recommandées par le *National Mastitis Council* (2004) :

- La première étape consisté à bien laver les trayons avec de l'eau et du savon, ensuite les essuyées avec du papier absorbant,
- Après avoir revêtu des gants, les extrémités des trayons étaient vigoureusement désinfectées avec une solution d'alcool à 70% (commencé par le trayon le plus éloigné et finir par le plus proche),

- Saisir le flacon de la main gauche et le dévisser de la main droite on maintenant le bouchon entre le pouce et l'index.
- Elimination des premiers jets,
- Approximativement 10ml de lait pour analyse bactériologique et antibiogramme étaient collectés dans un flacon stérile (du trayon le plus proche au plus éloigné), directement réfrigérés après identification (numéro d'identification de l'animal, date et quartier prélevé) (Figure 13),
- Un autre échantillon de 50ml était prélevé afin de réaliser le test CMT.

Pour les mammites cliniques les prélèvements ont été réalisés de la même manière, après avoir distribué aux cliniciens le matériel nécessaire et les prospectus relatifs à la technique d'échantillonnage. Les prélèvements collectés étaient congelés à -18°C jusqu'au moment de leur utilisations.



Figure 13: Techniques d'échantillonnage

1.5 Dépistage des mammites subcliniques

Le *California Mastitis Test* (CMT) a été développé par Schalm et Noorlander en 1957 pour détecter de façon fiable et rapide les mammites subcliniques. Le CMT est un test peu coûteux, rapide, qui peut être effectuée par toute personne ayant un minimum de formation. Le test est une mesure indirecte (semi quantitatif) des cellules somatiques (Leucocytes) dans le lait (Barnum et Newbould, 1961). L'augmentation de ces cellules dans le lait entraîne une augmentation proportionnelle du score CMT (Barnum et Newbould, 1961), (Dohoo et Meek, 1982). La réalisation du test nécessite l'emploi d'une palette munie de quatre (04) cupules de réception (correspondant aux 04 quartiers) et d'un liquide réactif « le teepol » :

- mettre 2 millilitres de lait par cupule,
- Ajouter un volume égal de réactif,
- Bien mélanger le réactif et le lait par un mouvement circulaire pendant 10 à 30 secondes.



Figure 14 : Réalisation du CMT

Les résultats ont été lus et évalués selon une grille d'interprétation sous formes de scores en corrélation avec une moyenne de numération des cellules somatiques (Ruegg, 2002) (Tableau 09).

L'objectif consiste à éprouver ce test rapide utilisé au pied de l'animal pour diagnostiquer les mammites dans les élevages bovins de la région de B.B.Arreridj, ensuite la fiabilité de ce test de diagnostic rapide a été vérifiée par l'analyse bactériologique du lait réagissant positivement. La comparaison des résultats de l'analyse bactériologique avec ceux du CMT va nous permettre de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus avec le test rapide

Tableau 09 : interprétation des Scores CMT (D'après Ruegg ,2002).

Score CMT	Description de la réaction	Comptage équivalent des cellules somatiques du lait par ml	Interprétation
Négatif	Mélange liquide, sans épaissement	0–200,000;	Quartier sain
Trace (T)	Léger précipité, mieux visible par mouvement de bascule, qui disparaît avec mouvement continu	150,000–500000	Infection possible
01	La formation d'un précipité distinct se produit immédiatement après mélange, mais pas de tendance à former un gel. ce précipité peut se dissiper au fil du temps	400,000–1500000	Mammite subclinique
02	Le mélange s'épaissit immédiatement et se déplace vers le centre	800,000–5000000	Mammite subclinique
03	Un gel se forme et la surface devient convexe	>5000000	Mammite subclinique

1.6 Analyses microbiologiques

Les isolats bactériens ont été obtenus à partir d'échantillons de lait de quartier individuel provenant des vaches avec un CMT positif (T, 1, 2 et 3). Les analyses bactériologiques ont été réalisées dans le laboratoire de bactériologie au niveau du CHU de Sétif.

1.6.1 Isolement et identification des souches de *S. aureus*

Un aliquote de 10 µL de chaque échantillon a été étalé sur une gélose au sang (Biomérieux) et sur milieu de Chapman (Institut Pasteur Algérie) et incubé à 37°C pendant 48 heures, les boîtes de pétri ont été examinées après 24 et 48 h d'incubation. Les colonies suspectes d'être des Staphylocoques ont été repiquées sur gélose au sang afin d'obtenir des cultures pures.

L'identification préliminaire du genre *Staphylococcus* a été effectuée par les méthodes conventionnelles « Aspects des colonies, l'Hémolyse, la coloration de Gram et la recherche de la Catalase » (figure 15 et 17). La mise en évidence de la Coagulase était effectuée en utilisant un test rapide d'agglutination (le SLIDEX®Staph Plus, Biomérieux, Marcy-L'étrole/France), ce test a été considéré comme positif si l'agglutination a été observée dans les 10 secondes. Si la

réaction était faible, ou si elle s'est produite après 10 secondes, le résultat a été jugé comme douteux. Ainsi pour l'identification finale des souches de *S. aureus*, les galeries (API ®Staph-Biomérieux, Marcy-L'étoile/France) étaient utilisées.

Un quartier a été considéré comme bactériologiquement positif lorsque une croissance de ≥ 500 UFC / ml a été détectée à partir d'un échantillon et la croissance de deux types de colonies bactériennes a été classée comme infection mixte. Un quartier a été considéré non infecté lorsqu'aucune croissance bactérienne n'a été observée durant 48h d'incubation.

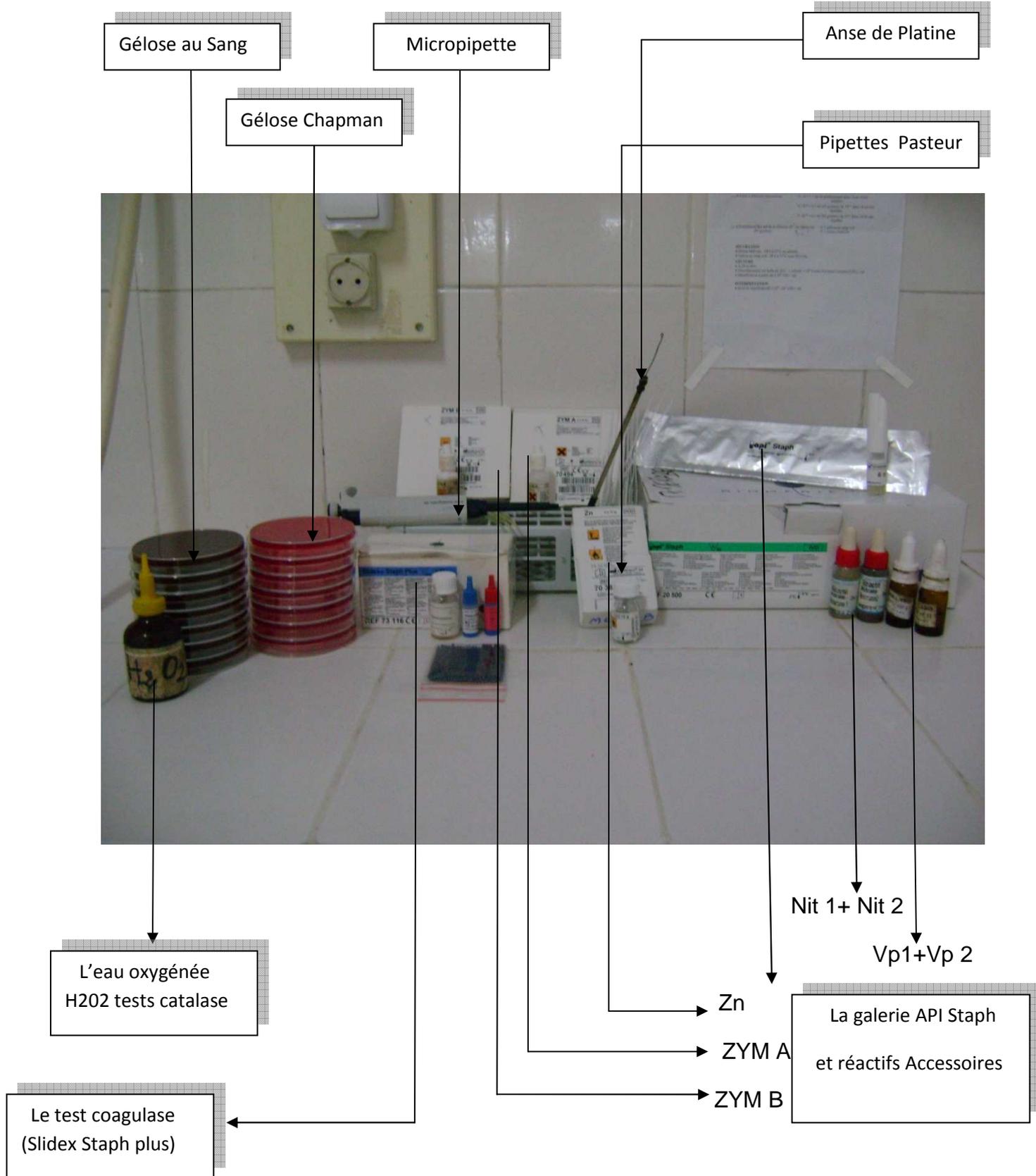


Figure 15 : Matériel d'identification

1.6.2 Test de production de β -Lactamase

Le test à la nitrocéfine sur disque (Céfinase™ Biomérieux, Marcy-L'Étoile/France) a été choisi pour mettre en évidence la production de β -lactamase par le *S. aureus* (Figure 16). La nitrocéfine est une céphalosporine chromogène, substrat de la β -lactamase produite par plusieurs bactéries (le *S. aureus*, les entérocoques, *Haemophilus influenza*, *Neisseria gonorrhoeae* ...). Lorsque ce substrat est hydrolysé en présence de la β -lactamase, il change de couleur passant du jaune pâle au rose. Un test positif prédit la résistance à la Pénicilline G, l'Ampicilline et l'Amoxicilline.



Figure 16 : Disque Céfinase (Souche productrice de β -lactamase)

A l'aide d'une pipette pasteur, plusieurs colonies de chaque souche isolée (culture pure de 24h) ainsi que la souche de contrôle positif (ATCC 29213) ont été prélevées et étalées à la surface du disque Céfinase humidifié avec de l'eau déminéralisée stérile et posé sur une boîte de Pétri vide. Les boîtes, contenant plusieurs disques, ont été incubées à 35°C pendant une heure pour accélérer la réaction. Deux lectures successives ont été réalisées après 15 et 60 minutes.

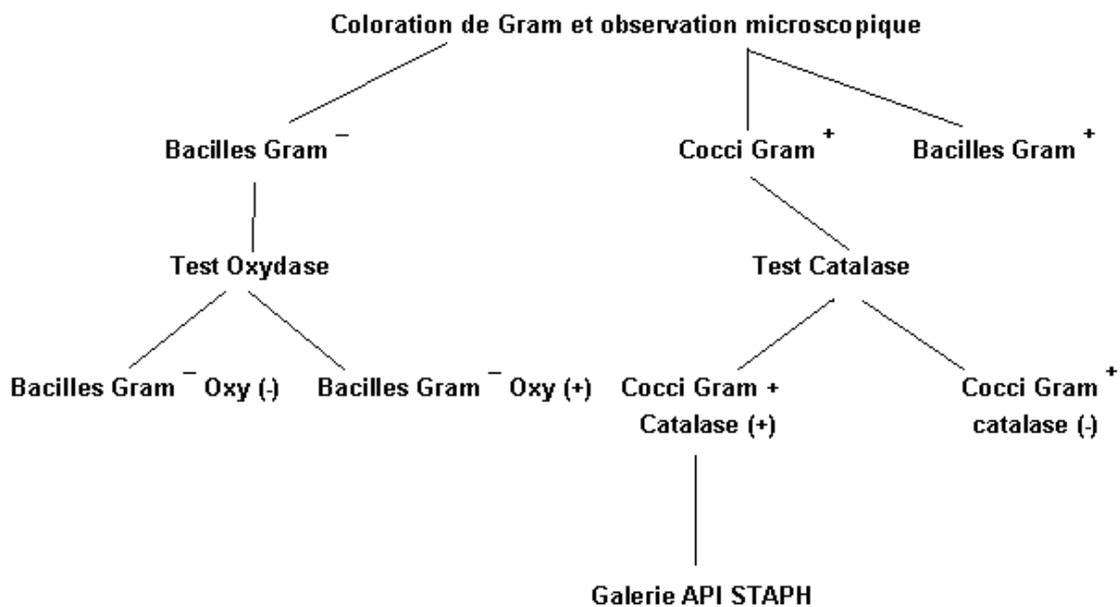


Figure 17 : Représentation schématique du protocole d'identification des souches bactériennes

1.6.3 Tests de sensibilité aux agents antimicrobiens

Avant de tester la sensibilité des souches de *S. aureus*, tous les isolats ont été repiqués sur gélose au sang et incubés pendant 24 h à 37 ° C.

1.6.3.1 Méthode de diffusion de disque : antibiogramme standard

A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement et à l'aide d'une anse de platine quatre à cinq colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été raclées. L'anse a été déchargée dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. La turbidité de l'inoculum a été équivalente à 0,5 Mc Farland. Un écouvillon stérile a été trempé dans la suspension bactérienne et essoré en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. La surface entière d'une gélose Mueller Hinton (MH), sèche a été frottée à l'aide de l'écouvillon de haut en bas, en stries serrées.

Les disques : Pénicilline G (Oxoid 10 UI), Ampicilline (Oxoid 10 μg), l'Amoxicilline plus acide Clavulanique (Oxoid 30 μg), l'Oxytétracycline (Oxoid 30 μg), l'Erythromycine (Oxoid 15 μg) et Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (Biomérieux 1.25 μg /23.75 μg) ont été placés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose et doucement enfoncé pour assurer le contact. Les boîtes de pétri étaient incubées à 35°C pendant 18h (figure 18). Par la suite, le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

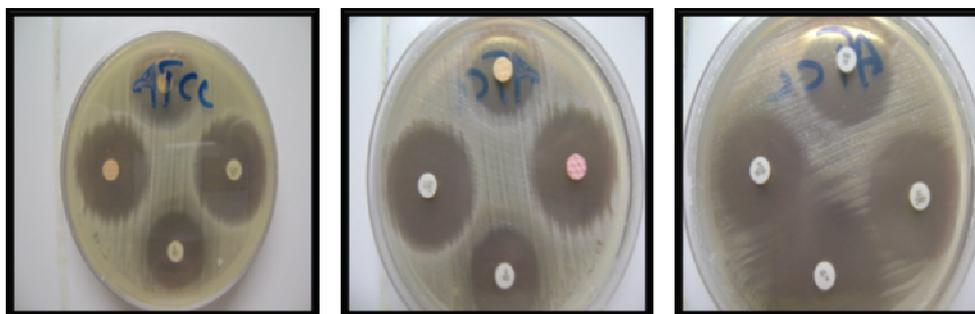


Figure 18 : Méthode de diffusion de disques

1.6.3.2 La méthode E test

Les concentrations minimales inhibitrices de la Pénicilline G, de l'Ampicilline et de l'Amoxicilline plus Acide Clavulanique ont été estimées par la méthode E test.

Le E test ® permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester. Ce gradient couvre une zone qui, en fonction des molécules, va de 0.016 à 256 mg/ml ou de 0.002 à 32 mg/ml. Le E test ® associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide (figure 19).

La préparation de l'inoculum et la technique d'ensemencement étaient similaire à la méthode précédemment décrite.

Après séchage des boîtes de pétri à température ambiante pendant 15 min, les 03 bandelettes (supports inertes, hydrophobes, de 5 mm de largeur et de 50 mm de longueur) ont été placées. Les boîtes ont été incubées pendant 18-24 h à 35 ° C.

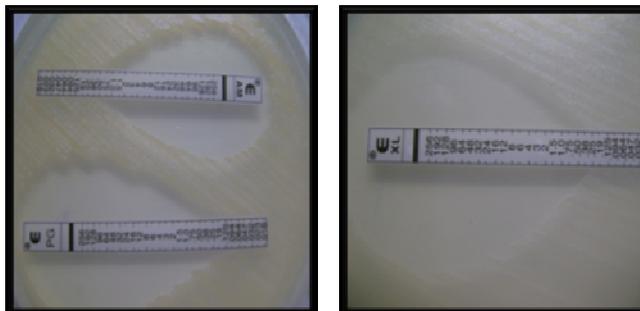


Figure 19 : Méthode E-test

Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse d'inhibition dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture, imprimé sur la bandelette, permet une interprétation rapide.

Tableau 10 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus sp* (CLSI : document M31-A2, 2004)

Antibiotiques	CMI Critiques (µg/L)		Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Ampicilline	0.25	0.5	10 µg	29	28
amoxicilline/ acide clavulanique	4/2	8/4	30 µg	20	19
penicilline G	0.12	0.25	10 UI	29	28

1.6.3.3 Recherche de la résistance de *S. aureus* à l'oxacilline

La résistance des Staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) était recherchée à l'aide d'un disque de Céfoxitine (30µg) dans les conditions standards. Les isolats montrant une zone d'inhibition <20 mm autour du disque de Céfoxitine ont été considérés comme résistants.

Les souches de contrôle pour la CMI et la méthode de diffusion sur gélose étaient *S. aureus* ATCC 29213 et *S. aureus* ATCC 25923, respectivement.

1.6.4 Tests Statistiques

Dans un premier lieu les résultats du test CMT étaient présentés en fonction du rang de lactation, du stade de lactation et du niveau de production. Dans un second lieu la répartition des souches de *S.aureus* isolées en fonction du rang de lactation et en fonction de leurs localisations sur la mamelle étaient évaluées par une analyse de variance (ANOVA). Le logiciel utilisé était le Sigma Stat V3.5.

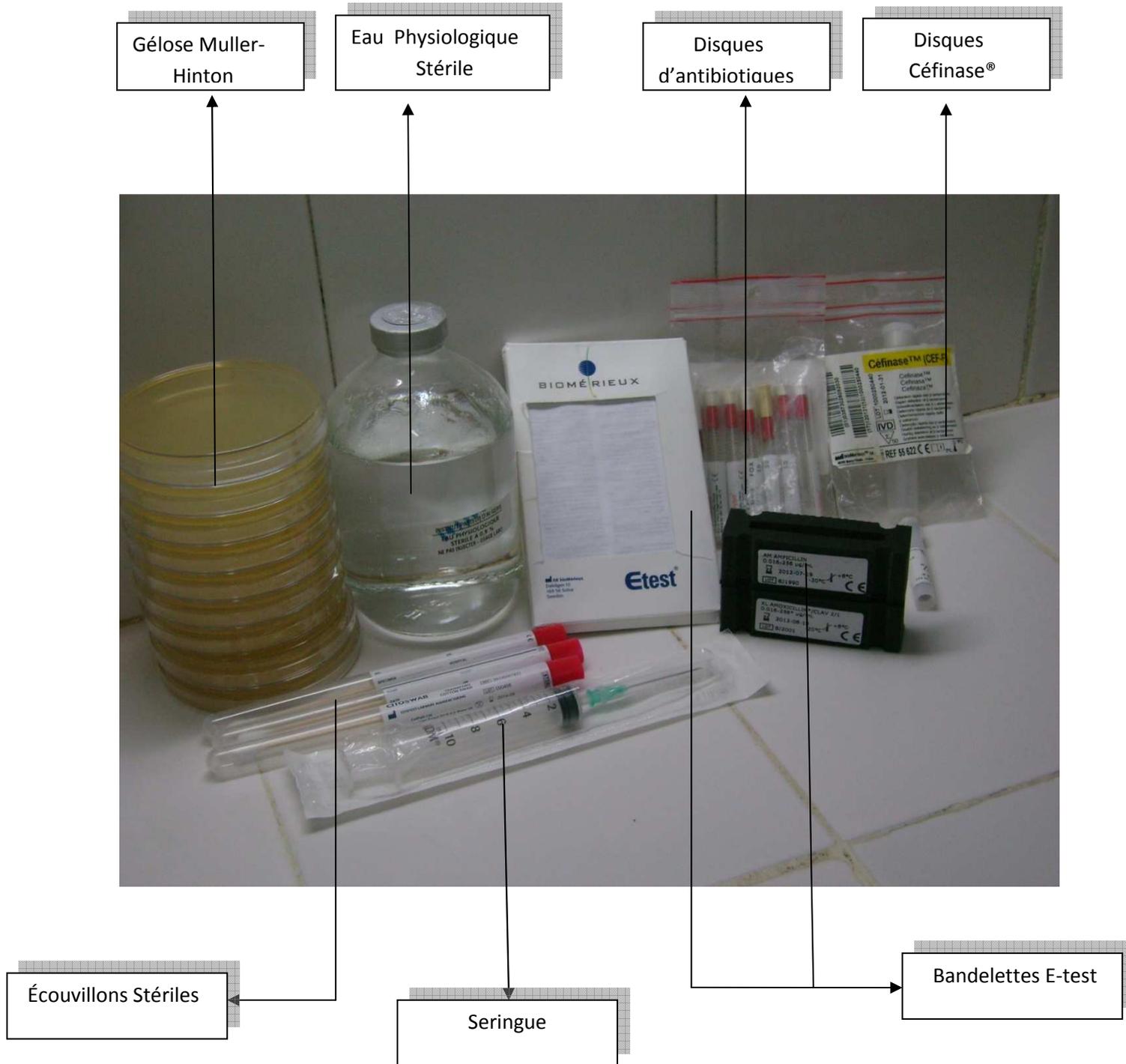


Figure 20 : Matériel pour antibiogramme

2. Résultats et discussion

2.1 Enquête épidémiologique

L'enquête épidémiologique nous a permis de relever les principaux points suivants :

- Le confort des animaux n'était pas pris en considération dans la majorité des exploitations visités cela est le résultat d'association de plusieurs facteurs à savoir : la mauvaise conception du logement des animaux (défaut d'aération, éclairage insuffisant, sol crevassé...) ainsi qu'une hygiène défectueuse (fréquence insuffisante de paillage et de raclage de l'aire de couchage) caractérisé par une mauvaise hygiène des vaches,

- Les règles d'hygiène de la traite ainsi que les mesures de contrôle des infections intramammaires n'étaient pas respectées.

La gestion de l'environnement afin d'optimiser la santé et la performance des troupeaux laitiers en respectant l'équilibre délicat « agent pathogène - hôte - environnement » à pour objectifs les points suivants: réduire le nombre absolu d'agents pathogènes dans l'environnement, réduire le risque de contact entre les agents pathogènes et les vaches ou les génisses et minimiser les effets néfastes de l'environnement sur les animaux, ce qui peut modifier les mécanismes de défense de l'hôte. En outre, un quatrième but pourrait être d'adapter la consommation alimentaire pour répondre aux besoins nutritionnels de l'animal pour une résistance appropriée aux maladies (Østerås et Leslie, 1997).

Le but essentiel dans la prévention des mammites est de limiter la contamination de la zone autour du canal du trayon par des agents pathogènes potentiels et d'interrompre les facteurs capables de transporter des bactéries de l'extérieur vers l'intérieur du canal et de renforcer les mécanismes de résistance de la vache.

Par comparaison des différents systèmes de logement, il est évident que la fréquence des mammites subcliniques est plus élevée dans les stabulations entravées que dans les stabulations libres. L'incidence des mammites est fortement liée à la qualité et à la quantité de la litière. Cela s'explique par le fait que lorsque la litière est défaillante elle favorise voire intensifie la pullulation des germes de l'environnement responsables surtout de mammites cliniques mais également de mammites subcliniques (Mtaallah *et al.*, 2002) .

L'utilisation d'une machine à traire, de même que les diverses pratiques qui y sont associées comme le lavage du pis ou des trayons à des effets considérables sur l'étiologie, l'incidence et la progression de la mammite. Ces effets peuvent se manifester directement en augmentant le taux de nouvelles infections ou indirectement, en amplifiant l'exposition aux bactéries ou en réduisant la résistance à la maladie. La traite à la machine peut influencer sur l'apparition et la gravité des mammites de quatre façons importantes :

- ✓ Faciliter la transmission des bactéries pathogènes entre les quartiers ou entre les vaches lors de la traite,
- ✓ Favoriser la multiplication des bactéries à l'extrémité des trayons,
- ✓ Accroître la pénétration des bactéries dans le canal du trayon,
- ✓ Altérer le trayon ou l'environnement intramammaire et favoriser l'infection bactérienne ou compromettre la réponse immunitaire.

Le contrôle des mammites nécessite des pratiques de gestion permettant de garder les vaches propres et au sec ainsi qu'une bonne préparation du pis avant la traite et la désinfection des trayons après. Ces mesures n'étaient guère respectées par les éleveurs participants à cette étude.

2.2 Test CMT

Les résultats concernent 144 vaches laitières de races différentes. Sur la totalité des bovins examinés, une réaction positive au test CMT a été observée chez 123 vaches soit environ 85%. Le pourcentage des animaux positifs au sein des élevages a varié de 64 à 100% (tableau 11).

Tableau 11 : Nombre et pourcentage des vaches ayant une réaction positive au test CMT par élevage

Elevage	Nombre de vache Testées	Réactions positives	% des positives
Elevage 1	13	11	84,61 %
Elevage 2	11	10	90,90 %
Elevage 3	26	26	100 %
Elevage 4	10	8	80 %
Elevage 5	9	9	100 %
Elevage 6	19	15	78,95 %
Elevage 7	5	5	100 %
Elevage 8	9	8	88,89 %
Elevage 9	8	6	75 %
Elevage 10	8	7	87,5 %
Elevage 11	11	7	63,64 %
Elevage 12	15	11	73,33 %
Total	144	123	85,42 %

Du nombre total des quartiers examinés 334 ont réagis positivement au test CMT ce qui représente 59,97 % des cas. Le nombre d'animaux ayant deux, trois et quatre quartiers positifs était de 38, 28 et 39 vaches respectivement (tableau 12).

Tableau 12 : Nombre et pourcentage des quartiers avec réaction positive au test CMT

Elevage	Nombre de vache Testées	nombre de quartiers examinés	Nombre de vache Avec réaction positive par quartier				Quartiers positifs		Quartiers négatifs
			01 quartier	02 quartiers	03 quartiers	04 quartiers	Nombre	%	
Elevage 1	13	52	0	5	1	5	33	75	19
Elevage 2	11	43	3	2	1	4	26	66,67	17
Elevage 3	26	101	3	8	5	10	74	73,27	27
Elevage 4	10	40	0	1	3	4	27	84,38	13
Elevage 5	9	35	1	3	3	2	24	68,57	11
Elevage 6	19	73	2	5	2	6	42	72,4	31
Elevage 7	5	19	1	1	2	1	13	68,42	6
Elevage 8	9	34	1	3	3	1	20	66,67	14
Elevage 9	8	31	0	1	2	3	20	86,96	11
Elevage 10	8	29	3	1	3	0	14	56	15
Elevage 11	11	42	2	4	0	1	14	53,85	28
Elevage 12	15	58	2	4	3	2	27	64,29	31
Total	144	557	18	38	28	39	334	59,97	223

Le pourcentage le plus élevé des quartiers positifs correspond aux scores CMT trace et 02 avec 16.70% et 19.57 respectivement, alors que le pourcentage le plus faible a été observé avec le score 03 avec seulement 11.49% (tableau 13).

Tableau 13 : Intensité de la réaction CMT en relation avec l'élevage et les quartiers

Elevage	Nombre de vache Testées	nombre de quartiers examinés	Classification des quartiers en fonction de l'intensité du test									
			(-)		Traces		01		02		03	
			Nbr	%	Nbr	%	Nbr	%	Nbr	%	Nbr	%
Elevage 1	13	52	19	36,54	8	15,38	6	11,54	18	34,62	1	1,92
Elevage 2	11	43	17	39,53	10	23,26	5	11,63	8	18,60	3	6,98
Elevage 3	26	101	27	26,73	20	19,80	10	9,90	30	29,70	14	13,86
Elevage 4	10	40	13	32,50	11	27,50	6	15	4	10	6	15
Elevage 5	9	35	11	31,43	6	17,14	0	-	10	28,57	8	22,86
Elevage 6	19	73	31	42,47	12	16,44	5	6,85	9	12,33	16	21,92
Elevage 7	5	19	6	31,58	6	31,58	1	5,26	1	5,26	5	26,32
Elevage 8	9	34	14	41,18	8	23,53	1	2,94	9	26,47	2	5,88
Elevage 9	8	31	11	35,48	2	6,45	7	22,58	7	22,58	4	12,90
Elevage 10	8	29	15	51,72	4	13,79	5	17,24	3	10,34	2	6,90
Elevage 11	11	42	28	66,67	5	11,90	3	7,14	5	11,90	1	2,38
Elevage 12	15	58	31	53,45	1	1,72	17	29,31	7	12,07	2	3,45
Total	144	557	223	40,04	93	16,70	68	12,21	109	19,57	64	11,49

2.2.1 Prévalence de mammite subclinique en fonction du rang de lactation et du niveau de production

Avec le CMT, le taux de positivité ne varie pas selon le rang de lactation qu'entre les primipares et les vaches en 2^{ième} et 3^{ième} lactation. Ce résultat est similaire à celui relevé par (Rakotozandrindrainy *et al.*,2007) à Madagascar et de (Bouaziz, 2005) en Algérie. D'autres auteurs (Sargeant *et al.*,2001) et (Saidi *et al.*,2010) ont rapporté , à l'opposé, que la proportion de vaches affectées par des mammites augmente avec le nombre de lactations. En effet, la prédisposition aux infections mammaires augmente avec l'âge, suite aux modifications physiologiques et anatomiques subies par les mamelles : diminution de la distance des trayons par rapport au sol, lésions sur le trayon (éversion, microhémorragies...) et perte d'élasticité du Sphincter,

Au contraire une différence ($p < 0,05$) a été constatée entre les vaches produisant (8-12 litres) et plus de 12 litres par jour et celles en produisant moins de huit respectivement avec un taux de positivité qui est presque 4 fois plus supérieur (Tableau 14).

Il a été constaté que pour tous les rangs de lactation étudiés, les vaches avaient un taux de prévalence supérieur à 70 %. Cela pourrait être attribué aux mauvaises conditions d'hygiène constatées dans la plupart des élevages visités, à la non pratique du tarissement et la mauvaise manipulation de la machine à traire.

Tableau 14 : Prévalence de mammite subclinique en fonction du rang, du stade de lactation et de niveau de production

Vaches	Rang de lactation			Stade de lactation « mois »				Niveau de production L/J		
	1 ^{er}	2 et 3 ^{ème}	3 ^{ème} et plus	1 ^{er}	2 ^{ème}	3 ^{ème}	4 ^{ème} et plus	< 8L	8-12L	>12L
Testées	36	73	35	7	17	20	100	13	54	77
CMT positives	27	64	32	7	17	17	82	3	49	71
%	75	87,67	91,43	100	100	85	82	23,08	90,94	92,21

2.2.2 Prévalence de mammite subclinique en fonction du stade de lactation :

L'analyse statistique a montré une différence significative entre le stade de lactation 1 et le 4^{ième} et plus, entre le 2^{ième} et le 4^{ième} et plus et entre le 3^{ième} et le 4^{ième} et plus. La fréquence d'infection subclinique était élevée dans notre étude et on a observé que la totalité des bovins dans les deux premiers mois de lactation étaient infectés suivi d'une très légère décroissance du taux d'infection au delà du 3^{ième} mois.

Pendant le peripartum, on constate une augmentation de la sensibilité de la glande mammaire ainsi qu'une augmentation de la pression pathogène liée aux germes d'environnement (mauvaises conditions hygiéniques du vêlage). La diminution de la fonction immunitaire ainsi que de la migration leucocytaire dans la glande mammaire au cours des premiers jours du post-partum contribuent à faire de cette période une période à risque.

L'incidence des infections d'environnement durant cette période est plus forte par rapport aux autres périodes de la lactation, cette incidence est liée aux infections de la lactation précédente, non éliminées lors du tarissement et qui ont pu persister pendant toute la durée de la période sèche. Le tarissement est donc une période clé pour la gestion des infections mammaires. Cette période est particulièrement favorable à l'élimination des infections persistantes. A l'inverse, elle est propice à l'installation de nouvelles infections.

Dans la présente étude, avec le test CMT la prévalence des mammites subcliniques était évaluée à 85.42% des vaches dépistées et la fréquence apparente des quartiers atteints était de 59,97%. Ce résultat était inférieur à celui trouvé par (Heleili *et al.* , 2012) (96.36%) , alors que dans l'étude de (Saidi *et al.*,2010) et de (Bouaziz,2005), la prévalence des mammites subcliniques étaient de 25% et de 73,6% respectivement.

A l'échelle internationale, la prévalence des mammites subcliniques définis par des vaches et des quartiers positifs au CMT était de 76% et 46 % respectivement (Karimuribo *et al.*, 2006) et de 80.6% des quartiers (Kivaria *et al.* ,2007) en Tanzanie et de 58.7% des vaches et 20.6 % des quartiers à Madagascar (Rakotozandrindrainy *et al.*,2007) et de 63.3% des vaches et 56.1% des quartiers en Bosnie Herzégovine (Varatanović *et al.* ,2010).

2.3 Analyses bactériologiques

2.3.1 Résultats globaux

Sur les 356 prélèvements analysés, 325 souches ont été isolées. Les Staphylocoques coagulase négative (SCN) et les Cocci Gram⁺ catalase négative étaient les souches les plus prédominantes avec un pourcentage de 36,31 et 22.77 % respectivement (Tableau15).

La culture bactériologique a été positive chez 81.74 % des vaches positives au CMT. Cette bonne corrélation entre les résultats du CMT et l'isolement a démontrée la fiabilité du test CMT pour le dépistage des infections intramammaires. La relation entre CMT et les résultats bactériologiques varient de 70 à 86% en fonction de l'agent causal (Sanford *et al.*, 2006), tandis que (Bastan *et al.*,2008) fournit des données de correspondance de 85%.

Le CMT fournit une méthode indirecte fiable et pas cher pour estimer le CCS des quartiers individuels. Toutefois, le test est imparfait et la sensibilité est influencée (entre autres) par l'impression subjective du lecteur, la composition du réactif et par le moment de l'échantillonnage par rapport à la traite (Busato *et al.* ,2000).

Tableau 15 : Prévalence des pathogènes mammaires isolés à partir d'échantillons de lait cliniques et subcliniques

Espèces	Nombre	%
SCN	118	36,31%
<i>S.aureus</i>	54	16.62%
<i>S.Hyicus</i>	4	1,23%
Cocci Gram ⁺ catalase (-)	74	22.77%
Bacille Gram ⁻	54	16.62%
Bacille Gram ⁺	21	6,46%
Total	325	100%

Total prélèvements soumis à la bactériologie	356	
<i>Négative</i>	53	
<i>Culture Mixte</i>	30	
SCN + Cocci Gram ⁺ Catalase (-)	21	
SCN + <i>S.aureus</i>	2	
SCN + Bacille Gram-oxydase (-)	3	
Bacille Gram ⁻ oxydase (-) + Cocci Gram ⁺ Catalase (-)	3	
SCN + Bacille Gram ⁺	1	
Echantillons contaminés	8	

2.3.1.1 Mammites subcliniques

Parmi les 334 quartiers à score CMT positif, 53 se sont révélés bactériologiquement négatifs (15.87%), 243 quartiers ont permis l'isolement d'un seul germe (72.75%) et 30 quartiers deux germes (8.98%), tandis que 08 quartiers étaient contaminés (2%) (Figure 21) (Voir annexe 5)

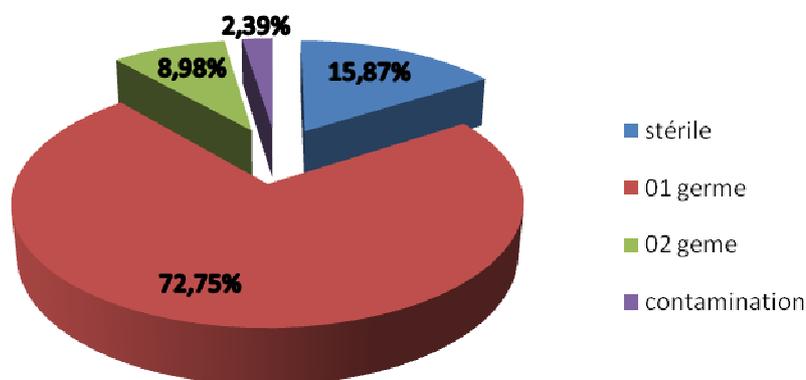


Figure 21 :Résultats des analyses bactériologiques

2.3.1.2 Mammites cliniques

Les 22 prélèvements fournis par les praticiens privés nous ont permis l'isolement de 22 souches en cultures pures. Les signes cliniques locaux et systémiques, la température rectale et l'apparence du lait ont été observés puis enregistrés (tableau 16). On utilisant des notes, les signes ont été marqués de I à III, où :

- I = Caillots ou grumeaux dans le lait, mais aucun autre signe,
- II = Température du corps de 39,0 à 40,5 ° C et / ou légère anorexie / dépression, gonflement du quartier concerné et modification modérée de l'apparence du lait,
- III = La température corporelle \Rightarrow 40,5 ° C et / ou une anorexie et dépression sévère et / décubitus, un gonflement marqué, quartier douloureux et ferme et forte modification de l'apparence du lait.

Tableau 16 : Germes isolés et sévérité des symptômes cliniques

N° d'identification	Race	N° de lactation	Germes isolés	Symptômes observés	Quartier
34 02 979 09002	Prim'Holstein	1	<i>S.Aureus</i> bl+	I	ARG
34 17 104 09002	montbéliarde	1	bacille Gram- oxidase-	I	AVG
FR 25 30 50 5569	montbéliarde	1	bacille Gram- oxidase-	I+II	ARG
34 02 190 08004	Fleckvieh	3	SCN	I	ARD
34 02 1172 07002	Pie noire	3	SCN	I	ARD
FR 25 46 70 1533	montbéliarde	1	<i>S.Aureus</i> bl+	I	ARD
AT 39 52 65 216	Fleckvieh	1	bacille Gram - oxidase-	I	AVD
34 17 605 08002	montbéliarde	2	bacille Gram- oxidase-	I	AVD
AT 50 48 86 914	Fleckvieh	2	cocci Gram+catalase-	I	ARG
34 02 49 03002	montbéliarde	>5	cocci Gram+catalase-	I	ARD
34 17 382 05002	montbéliarde	4	SCN	I	AVG
AT 34 46 70 116	Fleckvieh	2	bacille Gram-oxydase-	I+II	AVD
34 02 64 03002	Prim'Holstein	>5	SCN	I	ARD
34 02 64 01004	Prim'Holstein	>5	SCN	I	AVD
34 30 20 06002	montbéliarde	4	cocci Gram+ catalase-	I+II	ARG
34 02 58 05004	Pie noire	4	cocci Gram+ catalase-	I	ARG
34 17 180 07002	montbéliarde	2	<i>S.Aureus</i> bl+	I+II	ARD
AT 52 39 81 514	Fleckvieh	1	bacille Gram- oxydase -	I+II	ARG
34 26 571 07002	montbéliarde	2	bacille Gram- oxydase -	I+II	ARG
34 17 403 05002	Pie noire	4	bacille Gram- oxydase -	I+II	AVD
34 02 237 05004	Pie noire	4	SCN	I	ARG
34 17 214 09002	Pie noire	1	bacille Gram- oxydase -	I+II+III	ARG

Les résultats de notre enquête ont démontrés la prédominance des germes à réservoir mammaire « les Staphylocoques coagulase positive et négative avec 54,15% des isolats », les SCN étaient isolés dans 36% des cas. Selon (Hallén-Sandgren, 2000), en Suède, les isolements les plus importants lors de mammites subcliniques étaient le *S. aureus* (37%), les SCN (31%) et le *Str. uberis* (14%), alors que (Myllys *et al.*, 1998) ont trouvé que les SNC (53,5%) étaient les plus fréquents en Finlande (cité par Giannechini *et al.*, 2002) .

La négligence des mesures de contrôle des infections à réservoirs mammaires comme le traitement systématique au tarissement qui n'était pratiqué que par 50% des exploitations, le trempage des trayons avant et après la traite, l'hygiène très insuffisante des bâtiments et du matériel de traite sont autant de facteurs expliquant la fréquence élevée de ces germes.

2.3.1.3 Isolats de *S. aureus*

Sur la totalité de l'échantillon étudié, 54 souches de *S. aureus* ont été isolées. Au total 38 vaches étaient positives pour ce germe dont 35 parmi les 144 bovins appartenant à 12 exploitations investiguées dans le cadre du dépistage des mammites subcliniques et 03 vaches présentant des symptômes cliniques (tableau 17).

Tableau 17 : distribution des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au sein des élevages investigués

élevage	Nombre de bovin dans l'exploitation	Nombre de souches de <i>S.aureus</i>
élevage 1	13	7
élevage 2	11	4
élevage 3	26	6
élevage 4	10	7
élevage 5	9	7
élevage 6	19	4
élevage 7	5	4
élevage 8	9	4
élevage 9	8	2
élevage 10	8	4
élevage 11	11	0
élevage 12	15	2
Total	144	51

Concernant l'influence de rang de lactation, il ressort que le nombre de souches de *S. aureus* isolées n'était pas affecté par ce paramètre ($P > 0.05$) (figure 22).

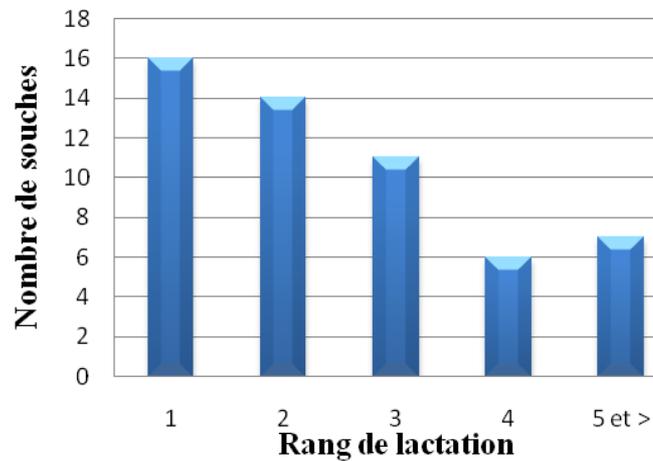


Figure 22 : *Nombre de souche isolées en fonction du rang de lactation*

Par ailleurs, les résultats obtenus sur la localisation de l'infection de la GM montrent que le *S. aureus* touchait plus les quartiers postérieurs (59.26 %) que les quartiers antérieurs (40.74%) (figure 23). Mais ces différences n'étaient pas significatives ($P > 0,05$).

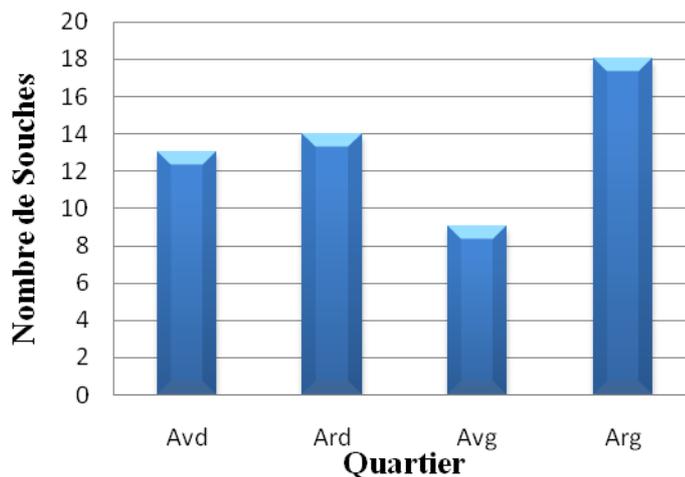


Figure 23: *Quartiers avec résultats bactériologique positif pour le S, aureus en fonction de leur localisation sur la mamelle*

2.3.1.3.1 Caractérisation phénotypique

Sur la base des caractéristiques phénotypiques obtenues en utilisant la galerie API ®Staph, les souches de *S. aureus* ont été classées en 04 profils biochimiques (tableau 18).

Tous les isolats ont fermentés le glucose, le fructose, le mannose, le maltose, le lactose, le tréhalose, le saccharose et le N-acetyl-glucosamine, mais pas le xylitol, le mélibiose, le raffinose, le xylose et l' α -méthyl-D-glucosidase. Ils étaient capables de réduire les nitrates en nitrites et de produire la phosphatase alcaline et de l'acétyl méthyl - carbinol.

Les isolats différent dans leur capacité à fermenter le mannitol et de produire l'arginine dihydrolase et l'urease.

Le profil biochimique 6736153 était prédominant, étant observé dans 23 isolats (42.59%) et distribué dans 9 des 12 troupeaux analysés et caractéristique d'une souche clinique sur trois ; alors que les autres profils 6736152, 6716153, 6716151 représentés respectivement 29.63% ,18.52% et 9.26%.

Tableau 18 : Profils numériques "Galerie API ®STAPH" de 54 souches *S.aureus* isolées des cas de mammites cliniques et subcliniques

Nombre D'isolats (%)	Profil Numérique	Réaction Biochimique																		
		glu	fru	mne	mal	lac	tre	man	xlt	mel	nit	pal	vp	raf	xyl	sac	mdg	nag	adh	Ure
5 (9,26%)	6716151	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0
10 (18,52%)	6716153	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1
16 (29,63%)	6736152	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1
23 (42,59%)	6736153	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1

Glu : Glucose, Fru : Fructose, Mne : Manose, Mal : Maltose, Lac : Lactose, Tre : Tréhalose, Man : Mannitol, XLT : Xylitol, Mel : Mélibiose

NIT : Nitrate de Potassium, PAL : β -naphtyl phosphate, VP : Soduim Pyruvate

Raf : Raffinose, Xyl : Xylose, Sac : Saccharose, MDG : Méthyl- α D-glucopyranoside , NAG : N-acétyl-glucosamine

ADH : L-arginine, URE : Urée

Le *S. aureus* est l'un des agents pathogènes les plus fréquemment isolés lors d'infections intramammaires chez les bovins dans le monde entier.

Dans notre étude le *S. aureus* était isolé dans 16.62% des cas (54 souches). Pour les mammites subcliniques une fréquence d'isolement de l'ordre de 16.83% a été observée et vu le nombre très réduit de prélèvement de mammites cliniques (22) le *S. aureus* n'a été isolé que dans 03 échantillons ; cette faible proportion ne peut être comparé à d'autres travaux réalisés dans un contexte régional, ou à l'international.

Dans l'étude de (Bouaziz ,2005) le *S. aureus* était la première espèce bactérienne isolée lors de mammites cliniques et subcliniques avec une fréquence élevée de 28.4% et 30.9% respectivement, alors que (Heleili *et al.* , 2012) ont trouvé une fréquence de 16.66% lors de mammites subcliniques.

Récemment (Pitkala *et al.*, 2004), ont présenté les résultats de deux enquêtes menées en 1995 et 2001 sur plus de 10000 échantillons. Globalement, 2172 et 4237 échantillons étaient bactériologiquement positifs respectivement en 1995 et en 2001 et la prévalence des infections intramammaires à *S. aureus* était de 3,5 et 3,4%.

En Allemagne (Tenhagen *et al.*,2006), le *S. aureus* était le principal agent pathogène contagieux isolé (5.7%), alors que la prévalence de l'infection du pis causée par le *S. aureus* en Croatie était de 11% et 12%, respectivement dans deux études réalisées avec un intervalle de temps de 08 années (Benić *et al.*,2012).

En Irlande, le *S. aureus* et le *Streptococcus uberis* étaient les agents prédominants avec 21% (n = 61) et 19% (n = 53) des isolats respectivement (Barret *et al.*,2005).

(Makovec et Ruegg, 2003) aux Etats-Unis, ont suggéré une amélioration du contrôle de ce pathogène au fil du temps sur constatation que le pourcentage des isolats a chuté passant de 17,7% à 9,7% entre 1994 et 2001.

En ce qui concerne la mammite clinique,(Hogan *et al.*,1989) ont révélé que seulement 1,7% des mammites cliniques ont été causées par le *S. aureus* dans neuf troupeaux à faible CCS, avec plus de 50% des infections cliniques attribués à des agents pathogènes de l'environnement et (Sargeant *et al.*, 1998) au Canada, ont indiqué que seulement 6,7% des cas de mammite clinique ont été causées par le *S. aureus* et environ le tiers étaient dus à des pathogènes d'environnement.

En Uruguay, une enquête visant à déterminer la prévalence des mammites subcliniques et l'incidence des mammites cliniques a été réalisée sur un échantillon de 29 troupeaux laitiers. Le nombre total des quartiers analysés à partir des cas subcliniques et cliniques était de 4308 et 40 respectivement. Le *S. aureus* était encore une fois l'agent pathogène le plus fréquemment isolé pour les échantillons cliniques (37,5%) et subcliniques (62,8%) (Giannechini *et al.*, 2002).

(Ramírez *et al.*, 2001) ont trouvé que les pathogènes majeurs isolés étaient le *Str. agalactiae* (47%) et le *S. aureus* (13%) lors d'une enquête réalisée en Colombie impliquant 112 vaches laitières.

Dans une étude menée en Jordanie incluant 138 échantillons clinique (15,7%) et 276 quartiers avec mammites subcliniques (31,4%), le *S. aureus* a été considéré comme la cause la plus fréquente des deux formes de l'infection intramammaire (Azmi *et al.*, 2008).

Au Kenya, (Shitandi *et al.*, 2004) ont isolé le *S. aureus* dans 34,2% des échantillons prélevés de 989 quartiers au cours de la période Novembre 2001 - Juin 2002.

2.3.1.3.2 Susceptibilité antimicrobienne

Toutes les valeurs de la susceptibilité antimicrobienne obtenues avec les souches témoins (ATCC) pour les deux essais effectués (méthode de diffusion de disque et CMI) étaient dans les limites prévues pour tous les agents antimicrobiens testés (Voir tableau 10).

Les gammes de CMI de chacun des agents antimicrobiens, les CMI₅₀ et CMI₉₀ des souches testées et les pourcentages de résistance obtenue par les deux méthodes sont présentés pour le *S. aureus* (tableau 19).

Tableau 19 : Production de β -lactamase et la sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées des cas de mammite

Antibiotique	Souches de <i>S.aureus</i>									
	β -Lactamase +					β -Lactamase -				
	CMI			Antibiogramme Standard		CMI			Antibiogramme Standard	
	CMI 50	CMI 90	dilution	Résistance %		CMI 50	CMI 90	dilution	Résistance %	
Pénicilline	0,25	1	0,016-256	31/31	100%	0,023	0,064	0,016-256	0/23	0%
Ampicilline	0,75	1	0,016-256	31/31	100%	0,047	0,094	0,016-256	0/23	0%
Amoxicilline* + acide clavulanique	0,38	0.75	0,016-256*	0/31	0%	0,094	0,125	0,016-256*	0/23	0%

Dans le test de diffusion de disque les souches β -lactamase positives ont présenté une forte résistance à la Pénicilline G et à l'Ampicilline. En revanche, l'activité de ces deux antimicrobiens était plus élevée contre les souches β -lactamase négatives par rapport aux souches β -lactamase positives (tableau 19). L'Amoxicilline + l'Acide Clavulanique et la Triméthoprim -Sulfaméthoxazole se sont avérées très actifs contre les souches β -lactamase positives et négatives et 9.26 % des souches se sont avérées résistantes à l'érythromycine (tableau 20). Pour la Tétracycline la résistance était relativement élevée avec 42.59% des souches et plus commune parmi les isolats résistantes à la Pénicilline (17/31 ; 54.84%) que parmi les souches sensibles (6/23 ; 26.09%).

Tableau 20 : La sensibilité in vitro de 54 souches de *Staphylococcus aureus* obtenu à partir des cas de mammites bovine cliniques et subcliniques.

Agent antimicrobien	CMI		% de résistance	
	Gamme de Dilution	Concentration critique	E-Test (%)	diffusion de disque sur gélose (%)
Pénicilline	0,016-256	$\geq 0,25$	57,41	57,41
Ampicilline	0,016-256	$\geq 0,5$	57,41	57,41
Amoxicilline + acide clavulanique	0,016-256*	$\geq 8/4$	0	0
tétracycline	NE	NE	NE	42,59
érythromycine	NE	NE	NE	9,26
triméthoprim - sulfaméthoxazole	NE	NE	NE	0

Cinq (05) souches étaient résistantes à un seul antibiotique, quatorze (14) souches à deux antibiotiques et dixhuit (18) ont été classées multirisistantes (tableau 21).

Tableau 21 : Phénotypes de résistance de 54 souches de *S.aureus*

souches résistantes			
	Profil de résistance	Nombre	%
A	P+AM	13	24,07
B	TET	5	9,26
C	P+AM+TET	14	25,93
D	P+AM+ERYTH	1	1,85
E	TET+ERYTH	1	1,85
F	P+AM+TET+ERYTH	3	5,56
G	Sensible à tous	17	31,48
Total		54	100

31 souches (57.41 %) étaient positives pour la production de β -lactamase (tableau 19). Les CMI de la pénicilline G et de l'Ampicilline des 54 souches suivaient une répartition bimodale (figure 24 et 25). Les 23 souches qui étaient négatives au test à la nitrocéfine présentaient les CMI les plus faibles comprises entre moins de 0,016 jusqu'à 0,094 $\mu\text{g/ml}$ pour la pénicilline G et de moins de 0,016 jusqu'à 0.19 $\mu\text{g/ml}$ pour l'Ampicilline. Pour les 31 souches positives, les CMI du test variaient entre 0,25 à 6 $\mu\text{g/ml}$ pour la pénicilline G et de 0.5 à 6 $\mu\text{g/ml}$ pour l'Ampicilline

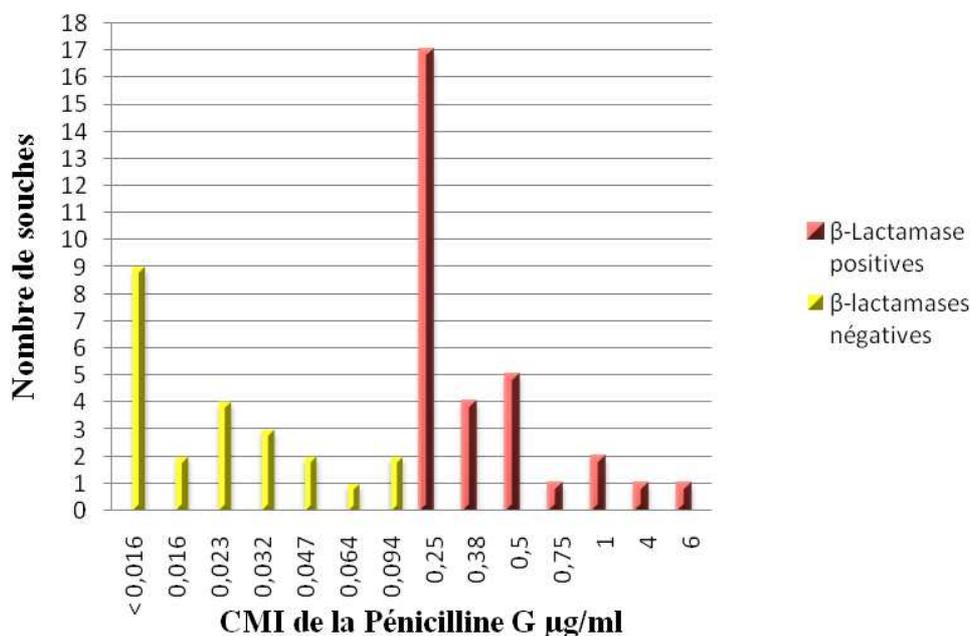


Figure 24 : CMI de la Pénicilline G vis-a-vis de 54 souches de *S.aureus* positives ou négatives au test à la nitrocéfine

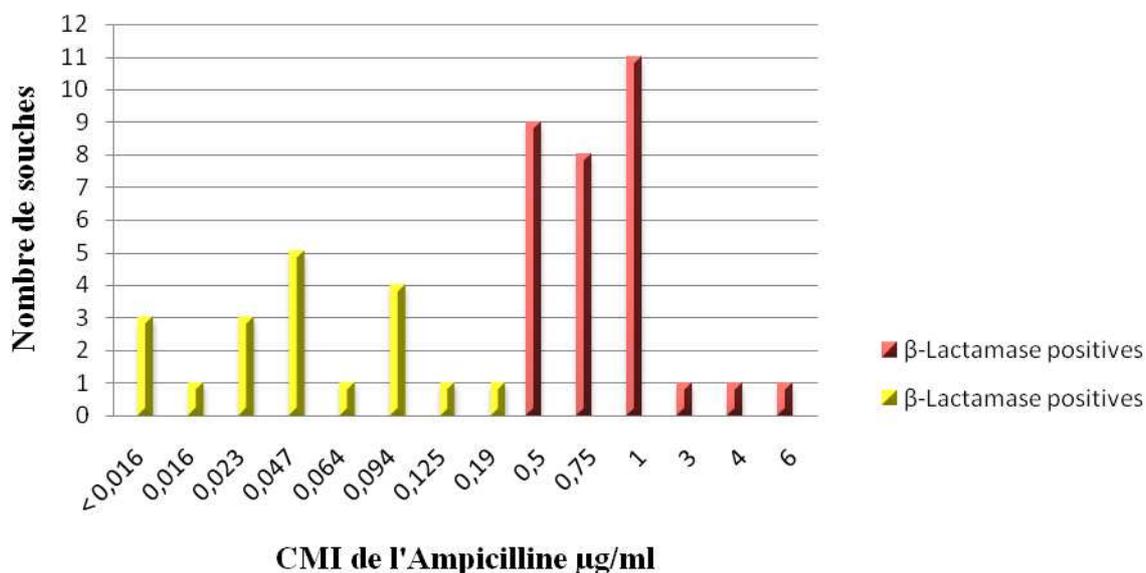


Figure 25: CMI de l'Ampicilline vis-a-vis de 54 souches de *S.aureus* positives ou négatives au test à la nitrocéfine

2.3.1.3.2.1 Résistance au β -lactamines

La sensibilité aux antimicrobiens des pathogènes de la mammite y compris le *S. aureus* a été largement étudiée (Owens *et al.*, 1997), (Salmon *et al.*, 1998), (Gentilini *et al.*, 2000), (Erskine *et al.*, 2002), (Giannechini *et al.*, 2002), (Makovec et Ruegg, 2003), (Tenhagen *et al.*, 2006), (Østerås *et al.*, 2006). De nombreux pays surveillent régulièrement la résistance des agents pathogènes d'origine animale, y compris le *S. aureus* d'origine mammaire (DANMAP, FINRES, MARAN, NORMVET, SVARM). Il semble y avoir des différences régionales dans les profils de résistance du *S. aureus* (Salmon *et al.*, 1998) , (De Oliveira *et al.*, 2000) mais dans la plupart des pays la résistance à la pénicilline est la forme la plus courante .

Sur la base des résultats de cette enquête et des études antérieures en Argentine ,Brésil, Finlande, Allemagne, Angleterre, l'Irlande, le Portugal, la Suisse, les Etats-Unis et l'Uruguay (Gentilini *et al.*,2000),(Oliveira *et al.*,2000) ,(Erskine *et al.*,2002),(Giannechini *et al.*,2002), (Makovec et Ruegg, 2003),(Tenhagen *et al.*, 2006),(Nunes *et al.*, 2007),(Rabello *et al.*, 2007), environ un tiers à deux tiers des isolats bovins de *S. aureus* sont résistants à la pénicilline. Des chiffres nettement plus faibles ont été communiqués par la Suède, le Danemark, les Pays-Bas, la Norvège où seulement 7-23% des isolats de *S. aureus* étaient résistants à la pénicilline (SVARM, 2001), (SVARM, 2002), (DANMAP, 2003), (MARAN, 2003), (NORM-VET, 2005), (Østerås *et al.*, 2006).

Les β - lactamines (pénicillines et céphalosporines) sont devenues les agents antimicrobiens de première ligne utilisés pour le traitement de la mammite bovine à travers le monde. Dans cette classe, la Pénicilline, l'Amoxicilline, la Cloxacilline et l'Ampicilline sont les agents le plus souvent utilisés.

Dans la présente étude, trois composés (Pénicilline, l'Ampicilline, l'Amoxicilline plus l'acide Clavulanique) de la classe des β -lactames ont été testés. La pénicilline est le plus ancien représentant de cette famille et a été considérablement affectée par la β –lactamase. La fréquence de résistance dans la présente étude était élevée (57,41 %) contre la Pénicilline et l'Ampicilline.

Toutefois, la résistance à la Pénicilline varie entre les pays. Ceci peut être lié à de nombreux facteurs, tels que les différences dans les systèmes de production animale et les politiques nationales relatives à l'utilisation des médicaments antimicrobiens dans chaque pays.

(Vintov *et al.*,2003) ont décrit une moyenne de résistance à la pénicilline de 32,4% chez des *S. aureus* isolés de mammites bovines dans 9 pays européens et aux États-Unis. La résistance à la pénicilline était élevée parmi les isolats de l'Irlande (71,4%), du Royaume- Uni (67,3%) et des États-Unis (50%), alors qu'elle était faible parmi les isolats provenant des pays scandinaves, avec 2% en Norvège.

Certaines études ont montré que la fréquence de résistance à la pénicilline a augmentée au fil du temps. Dans une enquête réalisée en Finlande (Myllys *et al.*, 1998) cité par (Güler *et al.*, 2005), il a été signalé que la proportion des *S. aureus* résistants à au moins un agent antibactérien a augmenté de 36,9 à 63,6% de 1988 à 1995 et la résistance était due dans la plus part des cas à des souches productrices de β -lactamase. Dans l'enquête de (Pitkala *et al.*, 2004), la résistance du *S. aureus* à la Pénicilline était de 52,1%. Par contre, d'autres études ont indiqué une tendance à la diminution de la résistance à la Pénicilline des isolats de *S. aureus* (Erskine *et al.*, 2002) , (Macovec et Ruegg, 2003). Il semble qu'après une rapide tendance à la hausse, le pourcentage des souches résistantes n'a pas changé au fil du temps ou une légère baisse était observée.

La CMI₉₀ de la pénicilline (0.5 μ g/ml) était égale à celle observée lors d'une étude collaborative qui comprenait des isolats provenant de 11 pays (De Oliveira *et al.*, 2000) mais plus faible que celles observées en Argentine (04 μ g/ml) ,au Japon (0,78 mg/ ml) (Russi *et al.*, 2008), au Chili (01 μ g/ml) (San Martin *et al.*, 2002) , en Uruguay (08 μ g/ml) (Giannechini *et al.* , 2002), au Portugal (0.4 μ g/ml) (Nunes *et al.*, 2007), en Italie (02 μ g/ml) (Moroni *et al.*, 2006) et en Finlande (Pitkälä *et al.*, 2004).

La CMI₉₀ de l'Ampicilline (1 μ g/ml), une pénicilline semi-synthétique spécialement modifiée pour être plus résistante à la β -lactamase, était supérieure à celle trouvée en Danemark et en Norvège (0.5 μ g/ml), mais inférieure à celles rapportée en Suisse et aux Etats Unis (04 μ g/ml) (De Oliveira *et al.*, 2000) , en Allemagne (02 μ g/ml) (Tenhagen *et al.*, 2006) et en Italie (5 μ g/ml) (Moroni *et al.*, 2006).

La détection de la production de β -lactamase chez les staphylocoques est une méthode utile et rapide pour détecter la résistance à la pénicilline. Une corrélation complète a été observée entre les résultats β -lactamase positifs et la résistance à la Pénicilline G et à l'Ampicilline. Les valeurs de la CMI₉₀ pour la Pénicilline G et l'Ampicilline pour les isolats β -lactamases négatives étaient faibles (0.064 et 0.094 μ g/ml) par rapport aux isolats β -lactamase positifs (1 μ g/ml). Cela indique que les niveaux élevés de résistance à la pénicilline pourraient être attribués à la production de cette enzyme.

Le taux de production de β -lactamase énoncée dans la présente étude (57.41%) est élevé par rapport à celui trouvé par (De Oliveira *et al.*, 2000) (35.6%) et de celui trouvé en Turquie (33.8%) (Öncel *et al.*, 2004) , mais inférieur à celui rapporté par (Nunes *et al.*, 2007) (66.7%).

Nos résultats suggèrent que le test de détection de β -lactamase par la nitrocéfine est fiable, en outre, il est de réalisation rapide et les résultats sont disponibles le jour suivant l'identification bactérienne. Ainsi la mise en évidence de la β -lactamase, en association avec les tests de susceptibilité peut être une méthode utile pour la recherche rapide de la résistance potentielle à la pénicilline (Østerås *et al.*, 1999). Cependant, les réactions de la nitrocéfine ne sont pas toujours

évidentes. Certains bactéries provoque un changement de couleur faible et l'inclusion des souches de contrôles positifs et négatifs est nécessaire pour faire un jugement définitif, tel que recommandé par le NCCLS (2002).

La raison la plus fréquente de l'échec de la technique chromogénique est probablement que certains isolats peuvent nécessiter une exposition préalable à un antibiotique de la classe des bêta-lactames avant de produire la β -lactamase (Lucas, 1979).

(De Oliveira *et al.*, 2000) ont constaté que seulement 35,6% des isolats bovins de *S. aureus* parmi 811 provenant de pays différents ont été β -lactamase positives dans le test chromogénique initiale, mais après l'induction par un disque de pénicilline, la proportion est passée à 57% . Un pourcentage élevé de souches inductibles indiquent que l'exposition primaire peut ne pas détecter toutes les souches capables de produire cette enzyme. D'autre part, la proportion des isolats inductibles varie selon les pays de 0 à 35% (Haveri *et al.*, 2005a). Fait intéressant, 50,9% des souches en provenance des États-Unis étaient β -lactamase positives par le test primaire avec un supplément de 20,8 % de souches inductibles. Ceci est en contraste avec une étude antérieure (Owens *et al.*, 1997), qui ont déterminé que seulement 18% des souches de *S. aureus* étaient β -lactamase positives et qu'aucune souches n'as exprimée une production inductible de β -lactamase.

Comme l'induction par la pénicilline n'a pas été effectuée avant de tester la production de β -lactamases dans cette étude, l'effet possible de ce phénomène sur la production de cette enzyme par les souches isolées n'était pas connu.

Il y a plusieurs raisons pour l'utilisation des associations d'antimicrobiens (réduire l'émergence d'agents pathogènes résistants, la diminution de la toxicité en réduisant la dose, le spectre complémentaire pour lutter contre les infections poly microbiennes et l'action synergique). Plusieurs combinaisons d'antibiotiques sont utilisées pour le traitement de la mammites bovine comme l'Amoxicilline + acide clavulanique et la lincomycine + néomycine.

L'Amoxicilline + l'Acide Clavulanique est une association largement utilisée en médecine humaine pour le traitement des infections à *S. aureus* β -lactamase positifs. L'Acide Clavulanique est un inhibiteur de bêta-lactamases. Même si elle a un faible effet antibactérien, lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec les pénicillines et les céphalosporines elle montre un effet synergique par l'inhibition de la β -lactamase. Il existe plusieurs études démontrant l'activité de l'Amoxicilline plus Acide Clavulanique contre les bactéries qui provoque des mammites. (Owens et Watts., 1988) ont démontré une activité de 100% de l'Amoxicilline plus Acide Clavulanique contre 722 isolats de *S. aureus* et SCN y compris les souches β -lactamases positives en utilisant le test de diffusion en gélose.

(De Oliveira *et al.*, 2000) ont rapporté une valeur CMI₉₀ pour l'Amoxicilline plus Acide Clavulanique qui variaient entre <0.06 à 0,125 μ g/ml . Dans notre étude aucune résistance n'a été

observée contre cette association que les souches étaient positives ou négatives pour la production de β -lactamases et la CMI₉₀ était de 0.75 μ g/ml ce qui démontre sa forte activité.

La méthode de diffusion de disque est la plus couramment utilisée dans les laboratoires vétérinaires en Algérie et dans de nombreux autres pays. Il n'y avait pas de différences significatives entre les méthodes (le E-test pour mesurer la CMI et l'antibiogramme standard pour mesurer les diamètres d'inhibition) lorsqu'il s'agissait de classer les isolats bactériens comme sensibles ou résistants aux 03 antibiotiques de la classe des β -lactamines (PG ; AMP et AMX) (tableau 25). Ces résultats sont en accord avec ceux de (Giannechini *et al.*, 2002).

Les résultats de l'antibiogramme pourraient être influencés par plusieurs facteurs, tels que la composition de la gélose, le pH, la densité de l'inoculum, la profondeur de la gélose, le calendrier et le temps d'incubation. Kielbauch *et al.* (2000) ont considérés la méthode de diffusion de disque comme un outil utile lorsque le niveau de conformité avec les directives de la NCCLS a été évalué périodiquement.

2.3.1.3.2.2 Résistances aux autres agents antimicrobiens

Les macrolides et les lincosaminide sont des agents antimicrobiens qui agissent en inhibant la synthèse des protéines bactériennes dépendantes de l'ARN (Watts et Salmon, 1997).

L'Erythromycine a été utilisée dans la présente étude pour représenter les macrolides, les résultats obtenus (tableau 25) ont montré une résistance rare des *S. aureus* à cet antibiotique (9.26%) comme il a été rapporté par diverses études menées (Owens *et al.*, 1997), (Lange *et al.*, 1999), (Erskine *et al.*, 2002), (Giannechini *et al.*, 2002), (Macovec et Ruegg, 2003) et (Rabello *et al.*, 2005). Alors que (Bouaziz, 2005) n'a trouvé aucune souche résistante entre 1998 et 2002 contrairement à (Heleili *et al.*, 2012) ou la moitié des souches étaient résistantes.

Dans le même sens aucune résistance n'a été observée contre la Triméthoprimé - Sulfaméthoxazole en parfaite concordance avec (Bouaziz, 2005) et (Erskine *et al.*, 2002).

Nos résultats en ce qui concerne la résistance à la Tétracycline pour le *S. aureus* (42.59%) sont similaires à ceux de (Bouaziz, 2005) (38 et 40% en 1998 et 2002 respectivement), mais supérieur à ceux rapportés par (Güler *et al.*, 2005) (27.9%), (Erskine *et al.*, 2002) (8.5%) et de (Rabello *et al.*, 2005) (7.4%).

La comparaison des profils de sensibilité de notre étude à des études antérieures doit être faite avec prudence en raison des différences dans : les tests de susceptibilité, dans la sélection des vaches pour la collecte des échantillons de lait (CCS), de la culture bactériologique (volume d'inoculum) et d'identification (nombre d'UFC/ml) et les différences régionales dans les populations d'agents pathogènes.

Plusieurs facteurs autres que l'utilisation d'antimicrobiens peuvent influencer les profils de sensibilité des pathogènes de la mammite. Le tissu cicatriciel dans les mamelles des vaches chroniquement infectés par le *S. aureus* empêche souvent la pénétration des agents antimicrobiens (De Oliveira *et al.*, 2000). Par conséquent, la recommandation générale est d'abattre tous les animaux avec des infections chroniques. Le contrôle des IIM causées par le *S. aureus* devrait impliquer de meilleures pratiques de gestion et d'utilisation sélective d'antimicrobiens. Malheureusement, la plupart des agents antimicrobiens utilisés en médecine vétérinaire s'appuient encore sur les critères d'interprétation développés pour les humains et la validité de ces critères pour catégoriser les agents pathogènes vétérinaires comme sensibles ou résistants n'a pas été établie. Actuellement, seule la pirlimycine et la combinaison pénicilline-novobiocine ont eu des critères d'interprétation élaborés à partir des données obtenues avec des pathogènes de la mammite. Ainsi, l'utilité des données de sensibilité est limitée à la surveillance du pourcentage des *S. aureus* avec des CMI aux dessus des valeurs seuil et ces valeurs ne peuvent être utilisées pour prédire l'efficacité clinique.

Il est possible aussi que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre confère une résistance à la pénicilline G plus que l'utilisation de cette molécule seulement. L'exposition de *S. aureus* à un antibiotique peut conduire à l'acquisition de plusieurs déterminants de résistance par la souche depuis que ces déterminants coexistent souvent dans des éléments génétiques mobiles, qui peuvent être transférés comme éléments entiers d'une souche à l'autre.

La flore normale d'une vache laitière peut être exposée à un agent antimicrobien pendant le traitement. Les traitements fréquents ou à long terme peuvent provoquer le développement d'une pression de sélection pour les bactéries résidentes sur la peau (Gustafsson *et al.*, 2003). Les sites fréquemment colonisés par le *S. aureus* peuvent agir ainsi comme des réservoirs de résistance. Par conséquent les souches sensibles peuvent acquérir des déterminants de résistance (Yazdankhah *et al.*, 2000) de ce réservoir. Les déterminants tels que *blaZ* peuvent se propager par des éléments génétiques mobiles, y compris la pénicillinase plasmidique, où ce gène souvent coexiste avec des gènes comme *sed* et *sej* (Zhang *et al.*, 1998).

2.3.1.3.2.3 Résistance à l'Oxacilline

Le disque de Céfoxitine inclus dans la présente étude permet la détection des souches résistantes à la méthicilline (*MRSA*) dont aucune n'a été détectée dans notre étude ce qui est en accord avec les résultats obtenus lors d'études précédentes menées en Argentine (Russi *et al.*, 2008), en Uruguay (Giannechini *et al.*, 2002), en Nouvelle Zélande et en Danemark (Salmon *et al.*, 1998) et au Chili (San Martín *et al.*, 2002).

La présente étude a montrée que 60% des souches de *S. aureus* étaient résistantes à plus d'un agent antimicrobien testé et le profil prédominant « C » était à la fois la résistance à la Pénicilline + l'Ampicilline + la Tétracycline (25.93%) suivi par le profil « A » (24.07%). Ceci peut être la conséquence de l'usage commun et incontrôlée de ces groupes d'antimicrobiens en Algérie. De toute évidence, ce sont les agents antimicrobiens les plus couramment utilisés pour traiter les maladies infectieuses.

Conclusion

Bien que l'étude des profils de résistance puisse fournir des informations importantes pour le développement d'une prévention efficace et des stratégies de traitement, l'éradication des mammites bovines à *S. aureus* n'a pas été possible.

Des mesures de contrôle tels que la gestion du troupeau et le traitement adapté des vaches infectées ne peuvent que réduire la prévalence et l'incidence à un niveau acceptable (Zadoks *et al.*, 2002a).

La méthode de diffusion des disques pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques, bien que largement utilisée et financièrement attractive, présente des limites. Elle est principalement utilisée dans un but qualitatif, distinguant les isolats en catégories « sensible, intermédiaire ou résistant », *a contrario* de la méthode de la concentration minimale inhibitrice qui elle est quantitative. Cette méthode est donc limitée pour détecter les changements subtils de sensibilité aux antibiotiques.

Toutefois, compte tenu de la nécessité de maintenir la surveillance de la résistance aux antimicrobiens dans un pays, il est important d'évaluer périodiquement la conformité des résultats avec les lignes directrices de la CLSI. Il est également important de surveiller régulièrement les concentrations minimales inhibitrices pour les souches isolées à partir de différentes régions du pays et une politique d'antibiothérapie responsable serait très pertinente dans un éventuel programme de contrôle de mammites en Algérie.

D'après les résultats présentés ici, il semble que la production de β -lactamase mérite d'être étudiée pour les souches de *S. aureus* isolées des cas de mammite en Algérie. Les disques Céfinase disponible dans le commerce utilisés dans cette étude pour la détection de l'activité bêta-lactamase de *S. aureus* ont été jugés utiles et permettent d'économiser un temps important de travail de laboratoire.

Une corrélation complète a été observée entre les résultats du test à la nitrocéfine et les CMI de la Pénicilline G et de l'Ampicilline, se qui confirme que la production de β -lactamase était la cause essentielle de la résistance à la pénicilline des *Staphylocoques aureus* responsables de mammites cliniques et subcliniques. D'autre part la très bonne aptitude du test à la nitrocéfine à discriminer les souches porteuses ou non du gène de résistance *blaZ* (Haveri *et al.*, 2005 a) donne une supériorité à

ce test comparativement à la méthode de la CMI et *a fortiori* de l'antibiogramme pour prédire la sensibilité ou la résistance du *S. aureus* à la pénicilline.

Le grand nombre d'isolats produisant les β -lactamase trouvés dans notre étude suggère que l'administration de β -lactamines, en particulier la pénicilline, doit être soigneusement pris en considération pour le contrôle des mammites dans la région de B.B.Arreridj.

La résistance au deuxième rang a été observée contre l'oxytétracycline et peu ou pas de résistance à été constatée contre l'érythromycine, l'Amoxicilline + Acide Clavulanique et la Triméthoprim – Sulfaméthoxazole. La majorité des isolats résistants à la Tétracycline étaient également résistants à la pénicilline. Cette combinaison de résistance a également été signalée auparavant pour des *S. aureus* isolés d'infections intramammaires (Waage *et al.*,2002).

Ainsi, la réalisation du test à la nitrocéfine sur quelques souches isolées à partir d'un petit nombre de quartiers dans un troupeau apparaît comme une méthode recommandable pour déterminer si la Pénicilline G, dont on connaît par ailleurs l'efficacité vis-à-vis des Streptocoques est un antibiotique de choix dans l'élevage pour le traitement des mammites. Ce test, réaliser immédiatement (18 à 24 heures) après l'isolement primaire apporte une réponse plus fiable, plus rapide et moins onéreuse que l'antibiogramme.

En fin le contrôle de la résistance aux antimicrobiens dans les troupeaux laitiers devrait tenir compte des pratiques de gestion globale plutôt que le recourt à l'utilisation unique des agents antimicrobien.

L'évaluation de l'activité des antibiotiques disponibles est bénéfique aux praticiens et leur fournis des données utiles sur les profils de résistance et leurs permet de choisir la meilleure alternative. L'élargissement de l'étude en examinant l'activité des antimicrobiens sur d'autres agents infectieux sera plus bénéfique.

Recommandations :

Notre étude, basée en majorité sur le test CMT pour le dépistage des mammites, nous a permis de détecter une atteinte de 85.42 % environ des femelles laitières avec des infections subcliniques qui persistent pendant une longue durée et passent parfois à l'état clinique et à la chronicité, constituant ainsi un risque de contagion pour les quartiers sains. D'autre part ce travail nous a permis l'identification de plusieurs facteurs de risques à prendre en considération si un programme de lutte contre les mammites est envisager.

Dans la situation actuelle en Algérie, vu qu'il n'existe pas un plan ou un réseau national de lutte contre les mammites, on ne peut donc que préconiser un ensemble de mesures prophylactiques fondamentales pour réduire la prévalence des mammites.

D'une manière générale la lutte contre cette affection peut être maîtrisée à l'aide d'un programme de gestion comprenant :

- Le contrôle des conditions d'élevages à savoir le logement approprié et le renouvellement et l'entretien de la litière,
- La stricte application des mesures d'hygiène au moment de la traite ainsi que l'utilisation et l'entretien appropriés du matériel de traite.
- Apprendre à reconnaître les symptômes des mammites, parmi les principaux points à retenir : l'observation des premiers jets et la palpation du pis après la fin de la traite,
- Le respect de l'ordre de traite (vaches saines et après les vaches infectées) et la désinfection systématique des trayons ;
- Le traitement adéquat des mammites cliniques en lactation (respect de la dose et de la durée du traitement) et la séparation des vaches atteintes ainsi que l'élimination du lait mammiteux,
- Le traitement des cas subcliniques au tarissement ;
- La réforme des vaches atteintes de mammites incurables ;
- la généralisation de l'utilisation du CMT individuel et sur le lait de mélange qui constitue une alternative de choix vu son faible coût et sa facilité d'exécution et qui permet de mieux détecter les vaches atteintes de mammites avant d'envisager un traitement.

En fin pour l'application de ces mesures les éleveurs doivent suivre périodiquement des cycles de formation sans oublier l'implication et la mobilisation des administrations et des acteurs chargés d'en assurer la mise en œuvre et le suivi.

REFERENCES :

1. Acar. J et B. Röstel. 2001. Antimicrobial resistance: an overview. Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz. 20 (3), 797-810.
2. Aguilar .B et M.Iturralde. 2001. Binding of a surface protein of *Staphylococcus aureus* to cultured ovine mammary gland epithelial cells. Veterinary microbiology, 82, 165-175.
3. Aires-de-Sousa Marta, Carlos E. S. R. Parente, Olney Vieira-da-Motta, Isabel C. F. Bonna, Denise A. Silva et Hermínia de Lencastre. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Buffalo, Bovine, Ovine, and Caprine Milk Samples Collected in Rio de Janeiro State, Brazil. *Appl. Environ. Microbiol*, 73(12):3845.
4. Akineden Ö, c. Annemüller, a. A. Hassan, c. Lâmmner, w. Wolter et m. Zschöck. 2001. Toxin genes and other characteristics of *staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. Clinical and diagnostic laboratory immunology, p. 959–964.
5. Ahmed M. Alluwaimi 2004. The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy. Research in Veterinary Science, 77, 211–222.
6. A. M. Alluwaimi, C. M. Leutenegger, T. B. Farver, P. V. Rossitto, W. L. Smith et J. S. Cullor.2003. The Cytokine Markers in *Staphylococcus aureus* Mastitis of Bovine Mammary Gland. J. Vet. Med. B 50, 105–111.
7. Almeida Raul A. et Stephen P. Oliver 2001. Interaction of coagulase-negative *Staphylococcus* species with bovine mammary epithelial cells. Microbial pathogenesis; 31: 205–212.
8. Almeida Raul A, Karl R. Malthews, F Eduardo Cifrian, Albert J. Guidry, et Stephen P. Oliver .1996. *Staphylococcus aureus* Invasion of Bovine Mammary Epithelial Cells. J Dairy Sci 79: 1021-1026.
9. Almeida Raul A, Weihuan Fang, Stephen P. Oliver. 1999. Adherence and internalization of *Streptococcus uberis* to bovine mammary epithelial cells are mediated by host cell proteoglycans. FEMS Microbiology Letters; 177 : 313-317.
10. Anderson K. L. et Lyman. R. L. 2006. Long-Term Persistence of Specific Genetic Types of Mastitis-Causing *Staphylococcus aureus* on Three Dairies. J. Dairy Sci. 89:4551–4556.
11. Arvidson Staffan et Karin Tegmark. 2001. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. Int. J. Med. Microbiol. 291 : 159-170.
12. Atalla Heba, Carlton Gyles, Bonnie Mallard. 2010. Persistence of *Staphylococcus aureus* small colony variants (S. aureus SCV) within bovine mammary epithelial cells. Veterinary Microbiology. 143: 319–328.
13. Azmi D. Hawari et Fawzi Al-Dabbas. 2008. Prevalence and Distribution of Mastitis Pathogens and their Resistance against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Jordan. American Journal of Animal and Veterinary Sciences 3 (1): 36-39.
14. Babic Maja, Andrea M. Hujer, Robert A. Bonomob. 2006. What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug Resistance Updates. 9: 142–156.

15. Bannerman Douglas D., Max J. Paape, Jai-Wei Lee, Xin Zhao, Jayne C. Hope et Pascal Rainard. 2004. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Elicit Differential Innate Immune Responses following Intramammary Infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11(3):463.
16. Bannerman Tammy I, Gary A. Hancock, Fred C. Tenover, et J. Michael Miller. 1995. Pulsed-Field Gel Electrophoresis as a Replacement for Bacteriophage Typing of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology.* 33 (03):551–555.
17. Barkema H. W., Y. H. Schukken, T.J.G.M. Lam, D. T. Galligan, M. L. Beiboer, et A. Brand. 1997. Estimation of Interdependence among Quarters of the Bovine Udder with Subclinical Mastitis and Implications for Analysis. *J Dairy Sci* 80:1592–1599.
18. Barkema H. W., Y. H. Schukken, T.J.G.M. Lam, M. L. Beiboer, H. Wilink, G. Benedictus et A. BRAND. 1998. Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. *J Dairy Sci.* 81:411–419.
19. Barkema H. W., Y. H. Schukken, T.J.G.M. Lam, D. T. Galligan, M. L. Beiboer et A. Brand. 1997. Estimation of Interdependence among Quarters of the Bovine Udder with Subclinical Mastitis and Implications for Analysis. *J. Dairy Sci.* 80:1592–1599.
20. Barnum D.A et F.H.S. Newbould. 1961. The use of the California mastitis test for the detection of bovine mastitis. *The Canadian Veterinary Journal.* Vol 2. N° 3. p.83-90.
21. Barrio Belén, Frédéric Vangroenweghe, Hilde Dosogne, Christian Burvenich. 2000. Decreased neutrophil bactericidal activity during phagocytosis of a slime-producing *Staphylococcus aureus* strain. *Vet. Res.* 31: 603–609.
22. Bastan Ayhan, Cihan Kaçar, Duygu B. Acar, Mithat Sahin, Mehmet Cengiz. 2008. Investigation of the Incidence and Diagnosis of Subclinical Mastitis in Early Lactation Period Cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci;* 32(2): 119-121.
23. Bayles Kenneth W, Carla A. Wesson, Linda E. Liou, Lawrence K. Fox, Gregory A. Bohach et W. R. Trumble. 1998. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the Endosome and Induces Apoptosis in Epithelial Cells. *Infect. Immun.* 66(1):336.
24. Benić. Miroslav, Boris. Habrun, Gordan. Kompes. 2012. Clinical and epidemiological aspects of cow mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and its methicillin-resistant strains. *Rad 511. Medical Sciences.* 37 : 113-122.
25. Bhutto. A.L, R.D. Murray, Z. Woldehiwet. 2012. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science.* 92: 13–17.
26. Bjorland Jostein, Marianne Sunde et Steinar Waage. 2001. Plasmid-Borne *smr* Gene Causes Resistance to Quaternary Ammonium Compounds in Bovine *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 39(11):3999.
27. Boismenu. Richard et Wendy. L. Havrant. 1997. An innate view of $\gamma\delta$ T cells. *Current Opinion in Immunology.* 9:57-63.
28. Bokarewa Tao Jin, Maria, Timothy Foster, Jennifer Mitchell, Judy Higgins et Andrej Tarkowski. 2004. *Staphylococcus aureus* Resists Human Defensins by Production of Staphylokinase, a Novel Bacterial Evasion Mechanism. *J Immunol.* 172;1169-1176.

29. Borm .A. A., L. K. Fox, K. E. Leslie, J. S. Hogan, S. M. Andrew, K. M. Moyes, S. P. Oliver, Y. H. Schukken, D. D. Hancock, C. T. Gaskins, W. E. Owens et C. Norman. 2006. Effects of Prepartum Intramammary Antibiotic Therapy on Udder Health, Milk Production, and Reproductive Performance in Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* 89:2090–2098.
30. Boulanger. Véronique, Xin. Zhao, Karoline. Lauzon, Pierre .Lacasse. 2007. Effects of nitric oxide on bovine polymorphonuclear functions. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 71:52–58.
31. Boulanger D., Bureau F., Lekeux P. 2006. Invasion intracellulaire des cellules non-phagocytaires par *Staphylococcus aureus*. *Ann. Méd. Vét.* 150, 27-42.
32. Bourry .A, B. Poutrel et J. Rocourt.1995. Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. *J. Med. Microbiol.* Vol. 43 :125-132.
33. Bradley. A. J. 2002. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal.*164 :116-128.
34. Bradley .A. J, K. A. Leach, J. E. Breen, L. E. Green, M. J. Green. 2007. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record* 160: 253-258.
35. Bradley. A. J et M. J. Green. 2009. Factors affecting cure when treating bovine clinical mastitis with cephalosporin-based intramammary preparations. *J Dairy Sci.* 92(5): 1941–1953.
36. Bramley .A. J, A. H. Patel, M. O'reilly, R. Foster, et T. J. Foster. 1989. Roles of Alpha-Toxin and Beta-Toxin in Virulence of *Staphylococcus aureus* for the Mouse Mammary Gland. *Infection and Immunity.* P.2489-2494.
37. Broadsent. J. R, Y. C. Chou, K. Gillies et J. K. Kondo. 1989. Nisin Inhibits Several Gram-Positive, Mastitis-Causing Pathogens. *J Dairy Sci* 72:3342-3345.
38. Brouillette. Eric, Brian G. Talbot et François Malouin. 2003a. The Fibronectin-Binding Proteins of *Staphylococcus aureus* May Promote Mammary Gland Colonization in a Lactating Mouse Model of Mastitis. *Infection and Immunity* p. 2292–2295.
39. Brouillette. Eric, Gilles .Grondin, Céline .Lefebvre, Brian .G. Talbot, François. Malouin.2004. Mouse mastitis model of infection for antimicrobial compound efficacy studies against intracellular and extracellular forms of *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology.* 101: 253–262.
40. Brouillette. Eric, Gilles. Grondin, Lulzim. Shkreta, Pierre .Lacasse, Brian .G. Talbot .2003b . In vivo and in vitro demonstration that *Staphylococcus aureus* is an intracellular pathogen in the presence or absence of fibronectin-binding proteins. *Microbial Pathogenesis* 35 : 159–168.
41. Buelow Kenneth L, Chester B. Thomas, William J. Goodger, Kenneth V. Nordlund, Michael T. Collins.1996. Effect of milk sample collection strategy on the sensitivity and specificity of bacteriologic culture and somatic cell count for detection of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine.* 26:1-8.
42. Burmeister .J. E, L. K. Fox, J. K. Hillers et D. D. Hancock.1998. A Comparison of Two Methods of Evaluation of Teat Skin Pathology. *Dairy Sci* 81:1904–1909.

43. Burvenich .Christian, Valérie Van Merris, Jalil Mehrzad, Araceli Diez-Fraile, Luc Duchateau.2003. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.* 34 : 521–564.
44. Busato .A, P. Trachsel, M. Schällibaum, J.W. Blum. 2000. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine* .44: 205- 220.
45. Bush .Karen, George A. Jacoby et Antone A. Medeiros.1995. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Minireview. Antimicrobial Agents And Chemotherapy.* p. 1211–1233.
46. Buzzola F. R, L. Quelle, M. I. Gomez, M. Catalano, L. Steele-Moore, D. Berg, E. Gentilini, G. Denamiel et D. O. Sordelli.2001. Genotypic analysis of *Staphylococcus aureus* from milk of dairy cows with mastitis in Argentina. *Epidemiol. Infect.* 126 : 445-452.
47. Caiazza .Nicky C. et G. A. O’Toole.2003. Alpha-Toxin Is Required for Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Bacteriology.* p. 3214–3217.
48. Calzolari Aldo, Jose A. Giraud, Horacio Rampone, Liliana Odierno, Ana T. Giraud, Cecilia Frigerio, Susana Bettera, Claudia Raspanti, Jorge Hernandez, Monica Wehbe, Miguel Mattea, Miriam Ferrari, Alejandro Larriestra, Rosa Nagel.1997. Field Trials of a Vaccine against Bovine Mastitis.2. Evaluation in Two Commercial Dairy Herds. *J Dairy Sci* 80:854–858.
49. Capurro. A, A. Aspán, H. Ericsson Unnerstad, K. Persson Waller et K. Artursson.2010. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. *J. Dairy Sci.* 93 :180–191.
50. Carter. E. W. et D. E. Kerr.2003. Optimization of DNA-based Vaccination in Cows Using Green Fluorescent Protein and Protein A as a Prelude to Immunization against Staphylococcal Mastitis. *J. Dairy Sci.* 86:1177–1186.
51. Chamberlain. N. R. et B. Imanoel.1996. Genetic regulation of fatty acid modifying enzyme from *Staphylococcus aureus*. *J. Med Microbiol.* Vol. 44 : 125-129.
52. Cheung. Ambrose L, J. Matthew Koomey, Charles A. Butler, Steven J. Projan et Vincent A. Fischetri.1992. Regulation of exoprotein expression in *Staphylococcus aureus* by a locus (sar) distinct from *agr*. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA.* 89:6462-6466.
53. Cheung L. Ambrose, Arnold S. Bayer, Gongyi Zhang, Hattie Gresham, Yan-Qiong Xiong.2004. Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology.* 40: 1-9.
54. Cifrian. E., A. J. Guidry, C. N. O'brien, W. W. Marquardt.1995. Effect of alpha-toxin and capsular exopolysaccharide on the adherence of *Staphylococcus aureus* to cultured teat, ductal and secretory mammary epithelial cells. *Research in Veterinary Science.* 58 : 20-25.
55. Cifrian. E, A.J. Guidry, A.J. Bramley, N.L. Norcross, F.D. Bastida-Corcuera, W.W. Marquardt. Effect of staphylococcal β toxin on the cytotoxicity, proliferation and adherence of *Staphylococcus aureus* to bovine mammary epithelial cells. *Veterinary Microbiology.* 48 : 187-198.

56. Collins. Matthew D. et Dorothy Jones.1981. Distribution of Isoprenoid Quinone Structural Types in Bacteria and Their Taxonomic Implications. *Microbiological Reviews*.45(02) 316-354.
57. Cucarella Carne, Cristina Solano, Jaione Valle, Beatriz Amorena, Íñigo Lasa et José R. Penades. *Bap*, a *Staphylococcus aureus* Surface Protein Involved in Biofilm Formation. *Journal of Bacteriology*. Vol 183.N°09. p. 2888–2896.
58. Cucarella Carne, M. Ángeles Tormo, Carles Úbeda, M. Pilar Trotonda, Marta Monzón, Critòfol Peris, Beatriz Amorena, Íñigo Lasa and José R. Penadés.2004. Role of Biofilm-Associated Protein Bap in the Pathogenesis of Bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun*.vol 72 N° 4:2177-2185 .
59. DANMAP 2003 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark.P.47.
60. De Oliveira, A. P., J. L. Watts, S. A. Salmon et F. M. Aarestrup. 2000. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. *J. Dairy Sci*. 83:855-862.
61. De Vliegher .S, H. Laevens, H. W. Barkema, G. Opsomer, T. Hemling, et A. de Kruif.2003. Short-Term Effect of Transition from Conventional to Automated Milking on Teat Skin and Teat End Condition. *J. Dairy Sci*. 86:1646–1652.
62. Diarra .M. S, D. Petitclerc, et P. Lacasse.2002. Effect of Lactoferrin in Combination with Penicillin on the Morphology and the Physiology of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. *J. Dairy Sci*. 85:1141–1149.
63. Dingwell. R. T, K. E. Leslie, T. F. Duffield, Y. H. Schukken, L. DesCoteaux, G. P. Keefe, D. F. Kelton, K. D. Lissemore, W. Shewfelt, P. Dick et R. Bagg.2003. Efficacy of Intramammary Tilmicosin and Risk Factors for Cure of *Staphylococcus aureus* Infection in the Dry Period. *J. Dairy Sci*. 86:159–168.
64. Dingwell. Randy T, Ken E. Leslie, Parviz Sabour, Dion Lepp, Jennifer Pacan. 2006. Influence of the genotype of *Staphylococcus aureus*, determined by pulsed-field gel electrophoresis, on dry-period elimination of subclinical mastitis in Canadian dairy herds. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 70:115–120.
65. Dohoo I.R et A.H. MEEK.1982. Somatic Cell Counts in Bovine Milk. *Can vet J* .23: 119-125.
66. Dunne .W. Michael Jr. 2002.Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clinical Microbiology Reviews*.15. (02):155–166.
67. Dziewanowska. Katarzyna, Andrew R. Carson, Joseph M. Patti, Claudia F. Deobald, Kenneth W. Bayles et Gregory A. Bohach. 2000. Staphylococcal Fibronectin Binding Protein Interacts with Heat Shock Protein 60 and Integrins: Role in Internalization by Epithelial Cells. *Infection and Immunity*.68 (11) :6321–6328.
68. Dziewanowska. Katarzyna, Joseph M. Patti, Claudia F. Deobald, Kenneth W. Bayles, William R. Trumble et Gregory A. Bohach.1999. Fibronectin Binding Protein and Host Cell Tyrosine Kinase Are Required for Internalization of *Staphylococcus aureus* by Epithelial Cells. *Infection And Immunity*. 67(09) :4673– 4678.

69. Ebling . T. L , I. K. Fox, K. W. Bayles, G. A. Bohach, K. M. Byrne, W. C. Davis, W. A. Ferens, et J. K. Hillers.2001. Bovine mammary immune response to an experimental intramammary infection with a *staphylococcus aureus* strain containing a gene for staphylococcal enterotoxin c1. J. Dairy sci. 84:2044–2050.
70. Elbers. A.r.w, J. D. Miltenburg, D. De Lange, A.P.P. Crauwels, H. W. Barkema, et Y. H. Schukken.1998. Risk Factors for Clinical Mastitis in a Random Sample of Dairy Herds from the Southern Part of the Netherlands. J Dairy Sci 81:420–426.
71. Enright .Mark C et Brian G. Spratt.1999. Multilocus sequence typing. Trends in microbiology. Vol. 7 no. 12 December 1999.
72. Ericsson Unnerstad. H., A. Lindberg, K. Persson Waller, T. Ekman, K. Artursson, M. Nilsson-öst, B. Bengtsson.2009. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. Veterinary Microbiology 137: 90–97.
73. Erskine R. J et R. J. Eberhart.1988. Comparison of Duplicate and Single Quarter Milk Samples for the Identification of Intramammary Infections. J Dairy Sci 71:854-856.
74. Erskine, R. J., R. D. Walker, C. A. Bolin, P. C. Bartlett et D. G. White. 2002. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. J. Dairy Sci. 85:1111–1118.
75. Erskine .Ronald J, Sarah Wagner, Fred J. DeGraves. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. Vet Clin Food Anim 19: 109–138.
76. Faller Anton et Karl-Heinz Schleifer.1981. Modified Oxidase and Benzidine Tests for Separation of Staphylococci from Micrococci. Journal of Clinical Microbiology.13 (6):1031-1035.
77. Ferens. Witold A, William C. Davis, Mary Jo Hamilton, Yong H. Park, Claudia F. Deobald, Lawrence Fox et Gregory bohach. 1998. Activation of Bovine Lymphocyte Subpopulations by Staphylococcal Enterotoxin C. Infection and Immunity.66 (2):573–580.
78. Ferguson.J. D, G. Azzaro, M. Gambina, et G. Licitra.2007. Prevalence of Mastitis Pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006. J. Dairy Sci. 90:5798–5813.
79. Foster .Timothy J, 2005. Immune Evasion by Staphylococci. Nature Reviews / Microbiology.03:948-958.
80. Fournier C, P.Kuhnert, J.Frey, R. Miserez, M. Kirchhofer, T. Kaufmann, A. Steiner, H.U.Graber.2008. Bovine Staphylococcus aureus: Association of virulence genes, genotypes and clinical outcome. Research in Veterinary Science .85: 439–448.
81. Fox. L.K, R.N. Zadoks, C.T. Gaskins.2005. Biofilm production by *staphylococcus aureus* associated with intramammary infection. Veterinary Microbiology .107: 295–299.
82. FOX L. K. et D. D. HANCOCK.1989. Effect of Segregation on Prevention of Intramammary Infections by *Staphylococcus aureus* 1989. J Dairy Sci 72:540-544.
83. Fox. L. K et R. J. Norell. *Staphylococcus aureus* Colonization of Teat Skin as Affected by Postmilking Teat Treatment When Exposed to Cold and Windy Conditions.1994. J Dairy Sci 77: 2281-2288.
84. Franz Sonja, Martina Floek, Margarete Hofmann-Parisot. 2009. Ultrasonography of the Bovine Udder and Teat. Vet Clin Food Anim 25: 669–685.

85. Froman Gunnar, Lech M. Switalski, Pietro Speziale et Magnus Hook.1987. Isolation and Characterization of a Fibronectin Receptor from *Staphylococcus aureus*. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 262. No. 14. Issue of May 15. pp. 6564- 6571.
86. Fueyo. J. M, M. C. Mendoza, M. R. Rodicio, J. Muñiz, M. A. Alvarez et M. C. Martín. 2005. Cytotoxin and Pyrogenic Toxin Superantigen Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* Associated with Subclinical Mastitis in Dairy Cows and Relationships with Macrorestriction Genomic Profiles. Journal of Clinical Microbiology.43 (3):1278–1284.
87. Fulwider W. K , T. Grandin, D. J. Garrick,T. E. Engle, W. D. Lamm, N. L. Dalsted, et B. E. Rollin.2007. Influence of Free-Stall Base on Tarsal Joint Lesions and Hygiene in Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90:3559–3566.
88. Garzoni Christian et William L. Kelley.2009. *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. Trends in Microbiology .17 (2):59-65.
89. Gentilini, E., G. Denamiel, P. Llorente, S. Godaly, M. Rebuelto et O. DeGregorio. 2000. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J. Dairy Sci. 83:1224–1227.
90. Giannechini .R, C. Concha, R. Rivero, I. Delucci et J. Moreno López.2002. Occurrence of Clinical and Sub-Clinical Mastitis in Dairy Herds in the West Littoral Region in Uruguay. Acta vet. Scand .43. 221-230.
91. Gill Steven R, Derrick E. Fouts, Gordon L. Archer, Emmanuel F. Mongodin, Robert T. DeBoy, Jacques Ravel, Ian T. Paulsen, James F. Kolonay, Lauren Brinkac, Mauren Beanan, Robert J. Dodson, Sean C. Daugherty, Ramana Madupu, Samuel V. Angiuoli, A. Scott Durkin, Daniel H. Haft, Jessica Vamathevan, Hoda Khouri, Terry Utterback, Chris Lee,George Dimitrov, Lingxia Jiang, Haiying Qin, Jan Weidman, Kevin Tran, Kathy Kang, Ioana R. Hance, Karen E. Nelson et Claire M. Fraser.2005. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain. Journal of Bacteriology 187 (7), 2426–2438.
92. Giraud T. Ana, Aldo Calzolari, Angel A. Cataldi, Cristina Bogni, Rosa Nagel.1999. The sae locus of *Staphylococcus aureus* encodes a two-component regulatory system. FEMS Microbiology Letters 177. 15-22.
93. Godden M. Sandra, Jocelyn T. Jansen, Ken E. Leslie, Nonie L. Smart, David F. Kelton.2002. The effect of sampling time and sample handling on the detection of *Staphylococcus aureus* in milk from quarters with subclinical mastitis. *Can Vet J* ; 43:38–42.
94. Götz Friedrich.2002. *Staphylococcus* and biofilms. Molecular Microbiology.43 (6), 1367–1378.
95. Grönlund U, A. Johannisson, K. Persson Waller.2006. Changes in blood and milk lymphocyte sub-populations during acute and chronic phases of *Staphylococcus aureus* induced bovine mastitis. Research in Veterinary Science 80 : 147–154.
96. Guidry A. J, C. N. O'brien, S. P. Oliver, H. H. Dowlen et L. W. Douglass.1994. Effect of Whole *Staphylococcus aureus* and Mode of Immunization on Bovine Opsonizing Antibodies to Capsule' J Dairy Sci 77:2965-2974.

97. Gustafsson, I., M. Sjölund, E. Torell, M. Johannesson, L. Engstrand, O. Cars et D. I. Andersson. 2003. Bacteria with increased mutation frequency and antibiotic resistance are enriched in the commensal flora of patients with high antibiotic usage. *J. Antimicrob Chemother.* 52:645-650.
98. Halasa T, K. Huijps , O. Østerås et H. Hogeveen.2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly* 29 : 18-31.
99. Halasa T, M. Nielen, A. P. W. De Roos, R. Van Hoorne, G. de Jong, T. J. G. M. Lam, T. van Werven, et H. Hogeveen. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *J. Dairy Sci.* 92:599–606.
100. Hamill J. Richard, James M. Vann et Richard A. Proctor.1986. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by Cultured Bovine Aortic Endothelial Cells: Model for Postadherence Events in Endovascular Infections. *Infection and Immunity.* 54(3) :833-836.
101. Harmon R. J. 1994. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *J Dairy Sci* 77:2103-2112.
102. Hart Tony, Shears Paul. Atlas de poche de microbiologie. Times Mirror International Publishers Limited.1997.P.88.
103. Hata Eiji, Ken Katsuda, Hideki Kobayashi, Torata Ogawa, Takayuki Endo et Masashi Eguchi. Characteristics and Epidemiologic Genotyping of *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine Mastitic Milk in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 68(2): 165–170.
104. Haveri M , A. Roslöf, L. Rantala² et S. Pyörälä.2007. Virulence genes of bovine *Staphylococcus aureus* from persistent and nonpersistent intramammary infections with different clinical characteristics. *Journal of Applied Microbiology* 103 : 993–1000.
105. Haveri M, M. Hovinen, A. Roslöf and S. Pyörälä.2008. Molecular Types and Genetic Profiles of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Intramammary Infections and Extramammary Sites. *J. Clin. Microbiol.* 46(11):3728-3735.
106. Haveri M, S. Suominen, L. Rantala, T. Honkanen-Buzalski, S. Pyörälä.2005 a. Comparison of phenotypic and genotypic detection of penicillin G resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infection. *Veterinary Microbiology* 106: 97–102.
107. Haveri. M. S. Taponen, J. Vuopio-Varkila, S. Salmenlinna et S. Pyörälä.2005 b. Bacterial Genotype Affects the Manifestation and Persistence of Bovine *Staphylococcus aureus* Intramammary Infection. *Journal of Clinical Microbiology.* Vol. 43, No. 2. p. 959–961.
108. Hebert Alexandre, khampoune sayasith, serge senechal, pascal dubreuil, jacqueline lagacé.2000. Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk. *FEMS Microbiology Letters* 193:57-62.
109. Heleili N., Ayachi A., Melizi M., Kassah A. L. et Mamache B. 2012. Prevalence of Subclinical Bovine Mastitis and the *In Vitro* Sensitivity of Bacterial Isolates in Batna Governorate, East of Algeria. *J Anim Sci Adv*, 2(6): 576-582.

110. Hensen S. M , M.J.A.M.P. Pavicic J.A.C.M. Lohuis et B. Poutrel.2000 a. Use of Bovine Primary Mammary Epithelial Cells for the Comparison of Adherence and Invasion Ability of *Staphylococcus aureus* Strains. J Dairy Sci 83:418–429.
111. Hensen S. M, M.J.A.M.P. Pavicic', J.A.C.M. Lohuis, J.A.M. de Hoog et B. Poutrel b.2000. Location of *Staphylococcus aureus* Within the Experimentally Infected Bovine Udder and the Expression of Capsular Polysaccharide Type 5 in Situ. J Dairy Sci 83:1966–1975.
112. Herron-Olson Lisa, J. Ross Fitzgerald, James M. Musser, Vivek Kapur.2007. Molecular Correlates of Host Specialization in *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE 2(10): e1120 .p. 1 -13.
113. Hogan j. S , k. L. Smith, k. H. Hoblet, p. S. Schoenberger, d. A. Todhunter, w. D. Hueston, d. E. Pritchard, g. L. Bowman, l. E. Heider, b. L. Brockett et h. R. Conrad.1989. Field Survey of Clinical Mastitis in Low Somatic Cell Count Herds. J Dairy Sei 72:1547-1556.
114. Hogan J.S et K.L. Smith. A Practical Look at Environmental Mastitis. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian.Volume 9, no. 10. 1987. p. F342 (National Mastitis Council Factsheet, Revised 10/97).
115. Holden Matthew T. G, Edward J. Feil, Jodi A. Lindsay, Sharon J. Peacock, Nicholas P. J. Day, Mark C. Enright, Tim J. Foster, Catrin E. Moore, Laurence Hurst, Rebecca Atkin, Andrew Barron, Nathalie Bason, Stephen D. Bentley, Carol Chillingworth, Tracey Chillingworth, Carol Churcher, Louise Clark, Craig Corton, Ann Cronin, Jon Doggett, Linda Dowd, Theresa Feltwell, Zahra Hance, Barbara Harris, Heidi Hauser, Simon Holroyd, Kay Jagels, Keith D. James, Nicola Lennard, Alexandra Line, Rebecca Mayes, Sharon Moule, Karen Mungall , Douglas Ormond , Michael A. Quail , Ester Rabinowitsch, Kim Rutherford, Mandy Sanders, Sarah Sharp, Mark Simmonds, Kim Stevens, Sally Whitehead, Bart G. Barrell, Brian G. Spratt et Julian Parkhill.2004. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. PNAS. vol. 101. no. 26. 9786–9791.
116. Hopster Hans, Joop T.N. van der Werf, Harry J. Blokhuis.1998. Stress enhanced reduction in peripheral blood lymphocyte numbers in dairy cows during endotoxin-induced mastitis. Veterinary Immunology and Immunopathology. 66 : 83-97.
117. Hortet Philippe et Henri Seeger.1998. Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion. Vet.Res.29:497-510.
118. Houben Eric H. P, Aalt A. Dijkhuizen, Johan A. M. Van Arendonk et Ruud B. M. Huirne.1993. Short- and Long-Term Production Losses and Repeatability of Clinical Mastitis in Dairy Cattle. J Dairy Sci 76:2561-2578.
119. Hudson C. Michael, Warren K. Ramp, Natalie C. Nicholson, Andra S. Williams et Markku T. Ousainen.1995. Internalization of *Staphylococcus aureus* by cultured osteoblasts. Microbial Pathogenesis .19: 409–419.
120. Hynes L. Wayne et Sheryl Lynne Walton.2000. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. FEMS Microbiology Letters .183 : 201-207.

121. Ito Teruyo, Keiko Okuma, Xiao Xue Ma, Harumi Yuzawa, Keiichi Hiramatsu.2003. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. Drug Resistance Updates. 6: 41–52.
122. Jamrozik J, J. Bohmanova et L. R. Schaeffer.2010. Relationships between milk yield and somatic cell score in Canadian Holsteins from simultaneous and recursive random regression models. J. Dairy Sci. 93 :1216–1233.
123. Jevon Marc, Chuanbin Guo, Beechai Ma, Nicky Mordan, Sean P. Nair, Malcolm Harris, Brian Henderson, George Bentley et Sajeda Meghji.1999. Mechanisms of Internalization of *Staphylococcus aureus* by Cultured Human Osteoblasts. Infection And Immunity.67(5) : 2677–2681.
124. Jonsson Klas, Christer Signas, Hans-Peter Muller et Martin Lindberg.1991. Two different genes encode fibronectin binding proteins in *Staphylococcus aureus* the complete nucleotide sequence and characterization of the second gene. Eur J Biochem 202, 1041 - 1048.
125. Joo.Y.S, L.K. Fox, W.C. Davis, G.A. Bohach, Y.H. Park.2001. *Staphylococcus aureus* associated with mammary glands of cows: genotyping to distinguish different strains among herds. Veterinary Microbiology .80: 131-138.
126. Jørgensen H. J, T. Mørk, D. A. Caugant, A. Kearns and L. M. Rørvik.2005. Genetic Variation among *Staphylococcus aureus* Strains from Norwegian Bulk Milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(12):8352-8361.
127. Kahl Barbara C, Mark Goulian, Willem van Wamel, Mathias Herrmann, Sanford M. Simon, Gilla Kaplan, Georg Peters et Ambrose L. Cheung.2000. *Staphylococcus aureus* RN6390 Replicates and Induces Apoptosis in a Pulmonary and Induces Apoptosis in a Pulmonary. Infection and Immunity.68(9) :5385–5392.
128. Kapur Vivek, William M. Sischo, Rebecca S. Greer, Thomas S. Whittam et James M. Musser.1995. Molecular Population Genetic Analysis of *Staphylococcus aureus* Recovered from Cows Journal of Clinical Microbiology 33 (2):376–380.
129. Karimuribo E.D, J.L. Fitzpatrick, C.E. Bell, E.S. Swai, D.M. Kambarage, N.H. Ogden, M.J. Bryant, N.P. French.2006. Clinical and subclinical mastitis in smallholder dairy farms in Tanzania: Risk, intervention and Knowledge transfer. Preventive Veterinary Medicine .74: 84–98.
130. Kebbal S, Gharbi I, Guemra S, Hanzen CH, Guetarni D.2008. Validation d'une méthode de dénombrement de la concentration en cellules somatiques du lait de vache au moyen du Coulter Counter® modèle Z2. *Ann. Méd. Vét.*, 221-226.
131. Kenny Kevin, Raoul F. Reiser, Felix D.Bastida-Corcuera et Neil L. Norcross.1993. Production of Enterotoxins and Toxic Shock Syndrome Toxin by Bovine Mammary Isolates of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology 31 (3):706-707.
132. Kiehlbauch A. Julia, George E. Hannett, Max Salfinger, Wendy Archinal, Catherine Monserrat et Cynthia Carlyn. 2000. Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards Guidelines for Disk Diffusion Susceptibility Testing in New York State Laboratories. Journal of Clinical Microbiology 38(9):3341–3348.

133. Kivaria F.M, J.P.T.M. Noordhuizen, M. Nielen.2007. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Preventive Veterinary Medicine*. 78: 274–285.
134. Kumar Ayush et Herbert P. Schweizer.2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57 : 1486– 1513.
135. Kuroishi Toshinobu, Ken-ichi Komine, Kenzo Kai, Masashi Itagaki, Jin Kobayashi, Minoru Ohta, Shin-ichi Kamata et Katsuo Kumagai.2003. Concentrations and Specific Antibodies to Staphylococcal Enterotoxin-C and Toxic Shock Syndrome Toxin-1 in Bovine Mammary Gland Secretions, and Inflammatory Response to the Intramammary Inoculation of These Toxins. *J. Vet. Med. Sci.* 65(8): 899.906.
136. Lammers Aart, Piet J.M. Nuijten, Hilde E. Smith.1999. The fibronectin binding proteins of *Staphylococcus aureus* are required for adhesion to and invasion of bovine mammary gland cells. *FEMS Microbiology Letters*. 180 : 103 -109.
137. Lange Carla, Marisa Cardoso, Dagmar Senczek, Stefan Schwarz.1999. Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. *Veterinary Microbiology*. 67 : 127-141.
138. Larsen H.D, K.H. Sloth, C. Elsborg, C. Enevoldsen, L.H. Pedersen, N.H.R. Eriksen, F.M. Aarestrup, N.E. Jensen.2000. The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine Danish dairy herds. *Veterinary Microbiology* 71 :89 – 101.
139. Lee Jai-Wei, Celia N. O'Brien, Albert J. Guidry, Max J. Paape, Kimberley A. Shafer-Weaver, X. Zhao.2005. Effect of a trivalent vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis lymphocyte subpopulations, antibody production, and neutrophil phagocytosis. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 69:11–18.
140. Leitner G, B. Yadlin, A. Glickman, M. Chaffer, A. Saran.2000. Systemic and local immune response of cows to intramammary infection with *staphylococcus aureus*. *Research in Veterinary Science*. 6 : 181–184.
141. Leitner Gabriel, Evgenia Lubashevsky, Anita Glickman, Marta Winkler, Arthur Saran, Zeev Trainin.2003a. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows I. Challenge trials. *Veterinary Immunology and Immunopathology* .93: 31–38.
142. Leitner G, E. Lubashevsky, Z. Trainin.2003 b. *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows, composition and evaluation of its immunogenicity in a mouse model. *Veterinary Immunology and Immunopathology* .93: 159–167.
143. Leitner Gabriel, Nathan Yadlin, Evgenia Lubashevsky, E. Ezra, Anita Glickman, Marcelo Chaffer, Marta Winkler, Arthur Saran, Zeev Trainin.2003c. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 93: 153–158.
144. Li Xian-Zhi, Manisha Mehrotra, Shiva Ghimire, Lateef Adewoye.2007. β -Lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*. 121:197–214.
145. Li Xian-Zhi et Hiroshi Nikaido.2009. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. *Drugs*. 69(12): 1555–1623.

146. Livermore D M .1995. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 8(4) :557–584.
147. Loeffler H. Scott, Meint J. de Vries et Ynte H. Schukken.1999. The Effects of Time of Disease Occurrence, Milk Yield, and Body Condition on Fertility of Dairy Cows. *J Dairy Sci* 82:2589–2604.
148. Lombard J. E, C. B. Tucker, M. A. G. von Keyserlingk, C. A. Koprak et D. M. Weary.2010. Associations between cow hygiene, hock injuries, and free stall usage on US dairy farms. *J. Dairy Sci.* 93 :4668–4676.
149. Luby C.D et J.R. Middleton.2005.Efficacy of vaccination and antibiotic therapy against *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cattle. *Vet Rec.*157 (3): p. 89-90.
150. Lucas T J.1979. An evaluation of 12 methods for the demonstration of penicillinase. *Journal of Clinical Pathology.* 32. 1061-1065.
151. Mack .D. 1999. Molecular mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *Journal of Hospital Infection* .43 (Supplement): S I 13-S I 25.
152. Makovec J. A et P. L. Ruegg.2003. Results of Milk Samples Submitted for Microbiological Examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J. Dairy Sci.* 86:3466–3472.
153. MARAN 2003. Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands .P.49.
154. Massova Irina et Shahriar Mobashery.1998. Kinship and Diversification of Bacterial Penicillin-Binding Proteins and β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* Vol. 42, No. 1. p. 1–17.
155. Matos J. S, D. G. White, R. J. Harmon et B. E. Langlois.1991. Isolation of *Staphylococcus aureus* from Sites Other than the Lactating Mammary Gland. *J Dairy Sci* 74:1544-1549.
156. Matsunaga Toshiyuki , Shin-ichi kamata , Norihide Kakiichi et Kazuo Uchida.1993.characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute , acute and chronic bovine mastitis.*J.vet.Med.Sci.*55(2):297- 300.
157. Matthews K. R, S. J. Kumar, S. A. O'conner, R. J. Harmon, J. W. Pankey, L. K. Fox et S. P. Oliver.1994. Genomic fingerprints of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *Epidemiol. Infect.* 112: 177-186.
158. McDougall S, K. E. Agnew, R. Cursons, X. X. Hou et C. R. W. Compton.2007. Parenteral Treatment of Clinical Mastitis with Tylosin Base or Penethamate Hydriodide in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 90:779–789.
159. McGavin M J, C Zahradka, K Rice et J E Scott.1997. Modification of the *Staphylococcus aureus* fibronectin binding phenotype by V8 protease. *Infection and Immunity.* Vol. 65, No. 7. p. 2621–2628.
160. Melchior M.B, H. Vaarkamp, J. Fink-Gremmels.2006. Biofilms: A role in recurrent mastitis infections? *The Veterinary Journal* 171 : 398–407.
161. Menzies E. Barbara et Iordanka Kourteva.1998. Internalization of *staphylococcus aureus* by Endothelial Cells Induces Apoptosis. *Infection and Immunity* 66(12):5994–5998.

162. Middleton, J.R et al., 2006. Efficacy of different Lysin formulations in the prevention of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in dairy heifers. J Dairy Res, 73(1): p. 10-9.
163. Middleton J. R, L. K. Fox, J. M. Gay, J. W. Tyler et T. E. Besser. 2002 a. Influence of *Staphylococcus aureus* Strain-type on Mammary Quarter Milk Somatic Cell Count and N-acetyl- β -D-glucosaminidase Activity in Cattle from Eight Dairies. J. Dairy Sci. 85:1133–1140.
164. Middleton R. John, Lawrence K. Fox, Timothy H. Smith.2001. Management strategies to decrease the prevalence of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a dairy herd. JAVMA, 218(10) :1615-1618.
165. Mitchell Gabriel, Eric Brouillette, David Lalonde Sèguin, Ann-Elise Asselin, Christian Lebeau Jacob, François Malouin.2010. A role for sigma factor B in the emergence of *Staphylococcus aureus* small-colony variants and elevated biofilm production resulting from an exposure to aminoglycosides. Microbial Pathogenesis .48 : 18–27.
166. Monecke, S., P. Kuhnert, H. Hotzel, P. Slickers et R. Ehricht. 2007. Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. Vet. Microbiol. 125:128-140.
167. Moon, J. S., A. R. Lee, H. M. Kang, E. S. Lee, M. N. Kim, Y. H. Paik, Y. H. Park, Y. S. Joo et H.C.Koo.2007.Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea. J. Dairy Sci. 90:1176-1185.
168. Moroni, P., G. Pisoni, M. Antonini, R. Villa, B. Boettcher et S. Carli. 2006. Short communication: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical mastitis in Italy. J. Dairy Sci. 89:2973-2976.
169. Mørk T, T. Tollersrud, B. Kvitle, H. J. Jørgensen et S. Waage.2005. Comparison of *Staphylococcus aureus* Genotypes Recovered from Cases of Bovine, ovine, and Caprine Mastitis. Journal of Clinical Microbiology. 43(8) :3979–3984.
170. Mtaallah B, Z. Oubey et H. Hammami .2002. Estimation des pertes de production en lait et des facteurs de risque des mammites subcliniques à partir des numérations cellulaires de lait de tank en élevage bovin laitier. *Revue Méd. Vét.*, 153, 4, 251-260.
171. Mullarky I.K, C.Su, N. Frieze, Y. H. Park et L. M. Sordillo.2001. *Staphylococcus aureus agr* Genotypes with Enterotoxin Production Capabilities Can Resist Neutrophil Bactericidal Activity. Infection and Immunity. 69(1) :45–51.
172. Murchan Stephen, Mary Elizabeth Kaufmann, Ariane Deplano, Raf de Ryck, Marc Struelens, Christina Elsberg Zinn, Vivian Fussing, Saara Salmenlinna, Jaana Vuopio-Varkila, Névine El Solh, Christina Cuny, Wolfgang Witte, Panayotis T. Tassios, Nikolas Legakis, Willem van Leeuwen, Alex van Belkum, Anna Vindel, Idoia Laconcha, Javier Garaizar, Saara Haeggman, Barbro Olsson-Liljequist, Ulrika Ransjo, Geoffrey Coombes and Barry Cookson.2003. Harmonization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocols for Epidemiological Typing of Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Single Approach Developed by Consensus in 10 European Laboratories and Its Application for Tracing the Spread of Related Strains. Journal of Clinical Microbiology.41(4) :1574–1585.
173. Nickerson C. Stephen.2009. Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment - an overview. Veterinary Microbiology .134: 128–135.

174. Nickerson S. C, W. E. Owens, L. K. Fox, C. C. Scheifinger, T. R. Shryock et T. E. Spike.1999. Comparison of Tilmicosin and Cephapirin as Therapeutics for *Staphylococcus aureus* Mastitis at Dry-off. J Dairy Sci 82:696–703.
175. Nizet Victor.2006. Antimicrobial Peptide Resistance Mechanisms of Human Bacterial Pathogens. Curr. Issues Mol. Biol. 8: 11–26.
176. NORM-VET.2005. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway.P.28.
177. Novick P. Richard et Dunrong Jiang.2003. The staphylococcal saeRS system coordinates environmental signals with agr quorum sensing. Microbiology. 149. 2709–2717.
178. Nunes, S. F., R. Bexiga, L. M. Cavaco et C. L. Vilela. 2007. Technical Note: Antimicrobial susceptibility of Portuguese isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in subclinical bovine mastitis. J. Dairy Sci. 90:3242-3246.
179. O'Brien, C.N A. J. Guidry, A. Fattom S. Shepherd L. W. Douglass et D. C. Westhoff . 2000. Production of antibodies to *Staphylococcus aureus* serotypes 5, 8, and 336 using poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres. J Dairy Sci, 83(8): p. 1758-66.
180. O'Brien C. N, A. J. Guidry, L. W. Douglass et D. C. Westhoff.2001.Immunization with *Staphylococcus aureus* Lysate Incorporated into Microspheres. J. Dairy Sci. 84:1791–1799.
181. O'Brien Louise M, Evelyn J. Walsh, Ruth C. Massey, Sharon J. Peacock et Timothy J. Foster.2002. *Staphylococcus aureus* clumping factor B (ClfB) promotes adherence to human type I cytokeratin 10: implications for nasal colonization. Cellular Microbiology. 11 : 759–770.
182. O'Brien Louise, Steven W. Kerrigan, Gideon Kaw, Michael Hogan, José Penadés, David Litt, Desmond J. Fitzgerald, Timothy J. Foster et Dermot Cox.2002b. Multiple mechanisms for the activation of human platelet aggregation by *Staphylococcus aureus*: roles for the clumping factors ClfA and ClfB, the serine–aspartate repeat protein SdrE and protein A. Molecular Microbiology. 44 (4), 1033–1044.
183. Olde Riekerink R. G. M, H. W. Barkema, D. F. Kelton et D. T. Scholl.2008. Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. J. Dairy Sci. 91:1366–1377.
184. Olive D. Michael et Pamela Bean. Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms. Journal of clinical Microbiology. Vol. 37, No. 6. p. 1661–1669.
185. Oliver S. P, M. J. Lewis, B. E. Gillespie, H. H. Dowlen, E. C. Jaenicke et R. K. Roberts.2003. Parturient Antibiotic Treatment of Heifers: Milk Production, Milk Quality and Economic Benefit. J. Dairy Sci. 86:1187–1193.
186. Oliver S. P, M. J. Lewis, B. E. Gillespie et H. H. Dowlen. Influence of Parturient Antibiotic Therapy on Intramammary Infections in Primigravid Heifers during Early Lactation.1992. J Dairy Sci 75:406-414.
187. Orwin M. Paul, J. Ross Fitzgerald, Donald Y. M. Leung, Juan A. Gutierrez, Gregory A. Bohach et Patrick M. Schlievert. Characterization of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin L. Infection and Immunity.71 (5):2916–2919.

188. Østeras O, V. L. Edge et S. W. Martin.1999. Determinants of Success or Failure in the Elimination of Major Mastitis Pathogens in Selective Dry Cow Therapy. *J Dairy Sci* 82:1221–1231.
189. Østeras O, L. Sølverød et O. Reksen.2006. Milk Culture Results in a Large Norwegian Survey—Effects of Season, Parity, Days in Milk, Resistance, and Clustering. *J. Dairy Sci.* 89:1010–1023.
190. Osterås. O et K. Leslie.1997. Animal housing and management - prevention of bovine diseases. 9th international congress in animal Hygiene. 17-21 august 1997. Helsinki. Finland.
191. Owens W.E, C. H. Ray, J. L. Watts et R. J. Yancey.1997. Comparison of Success of Antibiotic Therapy during Lactation and Results of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bovine Mastitis. *J Dairy Sci* 80:313–317.
192. Owens W.E, J. L.Watts, R. L. Boddie et C. Nickerson.1988. Antibiotic Treatment of Mastitis: Comparison of Intramammary and Intramammary plus Intramuscular Therapies. *J Dairy Sci* 71:3143—3147.
193. Owens W. E, S. C. Nickerson, P. J. Washburn et C. H. Ray. 1991. Efficacy of a Cephapirin Dry Cow Product for Treatment of Experimentally Induced *staphylococcus aureus* Mastitis in Heifers. *J Dairy Sci* 74: 3376-3382.
194. Owens W. E, S. C. Nickerson, R. L. Boddie, G. M. Tomita et C. H. Ray.2001. Prevalence of Mastitis in Dairy Heifers and Effectiveness of Antibiotic Therapy. *J. Dairy Sci.* 84:814–817.
195. Pavaux C. Atlas en couleurs d’anatomie des bovins, splanchnologie. maloine S.A éditeur.1982.P.152.
196. Patti M. Joseph, Hans Jonsson, BengtGuss, Lech M. Switalskill, Kristina Wiberg, Martin Lindberg et Magnus Höök.1992. Molecular Characterization and expression of a Gene Encoding a *Staphylococcus aureus* Collagen Adhesin. *The journal of Biological Chemistry.* 267(7). Issue of March 5 .p. 4766-4772.
197. Peles F , M. Wagner , L. Varga , I. Hein , P. Rieck , K. Gutser , P. Keresztúri , G. Kardos , I. Turcsányi , B. Béri , A. Szabó.2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology* 118: 186–193.
198. Pitkälä A, M. Haveri, S. Pyörälä, V. Myllys et T. Honkanen-Buzalski.2004. Bovine Mastitis in Finland 2001- Prevalence, Distribution of Bacteria, and Antimicrobial Resistance. *J. Dairy Sci.* 87:2433–2441.
199. Poutrel B, A. Boutonnier, L. Sutra et J. M. Fournier.1988. Prevalence of Capsular Polysaccharide Types 5 and 8 among *Staphylococcus aureus* Isolates from Cow, Goat, and Ewe Milk. *Journal of Clinical Microbiology.*26(1) :38-40.
200. Prevost G, B. Jaulhac et Y. Piemont.1992. DNA Fingerprinting by Pulsed-Field Gel Electrophoresis Is More Effective than Ribotyping in Distinguishing among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *Journal of Clinical Microbiology.*30 (4):967-973.

201. Proctor Richard, Christof von Eiff, Barbara C. Kahl, Karsten Becker, Peter McNamara, Mathias Herrmann et Georg Peters.2006. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nature Reviews / Microbiology*.4:295-305.
202. Pyörälä Satu. Treatment of Clinical Mastitis: Local and/or systemic? Short or long? 2006. World Buiatrics Congress. Nice, France.
203. Rabello F. Renata, Beatriz M. Moreira, Regina M. M. Lopes, Lucia M. Teixeira, Lee W. Riley et Angela C. D. Castro.2007. Multilocus sequence typing of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from cows with mastitis in Brazilian dairy herds. *Journal of Medical Microbiology*. 56. 1505–1511.
204. Rainard Pascal, Juan-Carlos Corrales, M. Belén Barrio Thierry Cochard et Bernard Poutrel.2003. Leucotoxic Activities of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Cows, Ewes, and Goats with Mastitis: Importance of LukM/LukF ϕ -PV Leukotoxin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*.10 (2):272–277.
205. Rakotozandrindrainy R, J.M. Razafindrajaona et G. Foucras.2007. Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar *Revue Méd. Vét.* 158 : 02 :100-105.
206. Ramírez Nicolás, Gerardo Gaviria, Ofelia Arroyave, B, Blanca Sierra, AEA y Jaime Benjumea, E. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Col Cienc Pec*.14(1) :76-87.
207. Remy dominique .Les mammites, hygiène, prévention, environnement.Guides France agricole.2010.P.21, 25.
208. Riollet Céline, Pascal Rainard et Bernard Poutrel.2000. Differential Induction of Complement Fragment C5a and Inflammatory Cytokines during Intramammary Infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 7(2) :161–167.
209. Riollet C, P. Rainard et B. Poutrel.2001. Cell Subpopulations and Cytokine Expression in Cow Milk in Response to Chronic *Staphylococcus aureus* Infection. *J. Dairy Sci*. 84:1077–1084.
210. Rivas A.L, R. Tadevosyan, F.W. Quimby, D.H. Lein.2002. Blood and milk cellular immune responses of mastitic non-periparturient cows inoculated with *Staphylococcus aureus*. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 66:125.131.
211. Roberson J. R, L. K. Fox, D. Hancock et J. M. Gay.1994. Ecology of *Staphylococcus aureus* Isolated from Various Sites on Dairy Farms. *J Dairy Sci* 77:3354-3364.
212. Roberson J. R, L. K. Fox, D. D. Hancock, J. M. Gay et T. E. Besser.1998. Sources of Intramammary Infections from *Staphylococcus aureus* in Dairy Heifers at First Parturition. *J Dairy Sci* 81:687–693.
213. Rosec J.P, J.P. Guiraud, C. Dalet, Nicole Richard.1997. Enterotoxin production by *staphylococci* isolated from foods in France. *International Journal of Food Microbiology* 35 : 213-221.

214. Ruegg L. Pamela et Douglas J. Reinemann.2002. Milk Quality and Mastitis Tests.p.1-33.
215. Russell, M.W., B.E. Brooker, et B. Reiter.1977.Electron microscopic observations of the interaction of casein micelles and milk fat globules with bovine polymorphonuclearleucocytes during the phagocytosis of Staphylococci in milk. J Comp Pathol.87 (1): p. 43-52.
216. Rutherford K. M. D, F. M. Langford, M. C. Jack, L. Sherwood, A. B. Lawrence et M. J. Haskell.2008. Hock Injury Prevalence and Associated Risk Factors on Organic and Nonorganic Dairy Farms in the United Kingdom. J. Dairy Sci. 91:2265–2274.
217. S.Hu, C Concha, F.Lin, K.Persson Waller.2003. Adjuvent effect of ginseng extracts on the immune responses to immunisation against Staphylococcus aureus in dairy cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology.91 :29-37.
218. Sabour P. M, J. J. Gill, D. Lepp, J. C. Pacan, R. Ahmed, R. Dingwell et K. Leslie.2004. Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. Journal of Clinical Microbiology.42(8) :3449–3455.
219. Safo K. Martin, Qixun Zhao, Tzu-Ping Ko, Faik N. Musayev, Howard Robinson, Neel Scarsdale,Andrew H.-J. Wang et Gordon L. Archer. Crystal Structures of the BlaI Repressor from *Staphylococcus aureus* and Its Complex with DNA: Insights into Transcriptional Regulation of the *bla* and *mec* Operons. Journal of Bacteriology. Vol. 187, No. 5. p. 1833–1844.
220. Saidi R, D. Khelef, R. Kaidi.2010. Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. 63 (3-4) : 57-61.
221. Salat O, F. Sérieys, B. Poutrel, L. Durel et L. Goby.2008. Systemic Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Cows with Penethamate Hydriodide. J. Dairy Sci. 91:632–640.
222. Salmon S. A, J. L. Watts, F. M. Aarestrup, J. W. Pankey et R. J. Yancey, JR.1998. Minimum Inhibitory Concentrations for Selected Antimicrobial Agents against Organisms Isolated from the Mammary Glands of Dairy Heifers in New Zealand and Denmark. J Dairy Sci 81:570–578.
223. Sampimon O. C, S. De Vlieghe, H. W. Barkema, J. Sol et T. J. G. M. Lam.2009. Effect of parturition dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk production. J. Dairy Sci. 92 :4395–4403.
224. Sandgren Charlotte Hallèn, Karin Persson Waller, Ulf Emanuelson.2008. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. The Veterinary Journal 175 : 108–117.
225. Sanford C.J , G.P. Keefe , J. Sanchez , R.T. Dingwell , H.W. Barkema , K.E. Leslie , I.R. Dohoo. Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. Preventive Veterinary Medicine 77: 96–108.
226. San martin. B, J. Kruze M. A. Morales, H. Agüero, B. Leon S. Espinoza D. Iragüen, J. Puga C. Borie.2002. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. Archivos de medicina veterinaria. v.34 n.2.

227. Sargeant M. Jan, H. Morgan Scott, Ken E. Leslie, Mary Jane Ireland, Anna Bashiri.1998. Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Can Vet J.*39 :33-38.
228. Schleifer Karl Heinz et Otto Kandler. Peptidoglycan .Types of Bacterial Cell Walls and their Taxonomic Implications. *Bacteriological Reviews.* 36(4):407-477.
229. Schrick F. N, M. E. Hockett, A. M. Saxton, M. J. Lewis, H. H. Dowlen et S. P. Oliver. 2001. Influence of Subclinical Mastitis during Early Lactation on Reproductive Parameters. *J. Dairy Sci.* 84:1407–1412.
230. Schroeder J. W. 1997.Bovine Mastitis and Milking Management. *Mastitis Control Programs.*
231. Schubert Hans Joachim, Corinna Krueger, Holm Zerb, Elma Bleckmann, Wolfgang Leibold.2001.Characterization of leukocytotoxic and superantigen-like factors produced by *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. *Veterinary microbiology.*82:187-199.
232. Schukken Y. H, J.A.H. Smit, F. J. Grommers, D. Vandegheer et A. Brand.1989. Effect of Freezing on Bacteriologic Culturing of Mastitis Milk Samples. *J Dairy Sci* 72:1900-1906.
233. Sears, P., Staphylococcal mastitis: What are the new Strategies?, National Mastitis Council Annual Meeting. National Mastitis Council, Inc., Orlando, FL. 2002: p. 73 -79.
234. Sears P. M, B. S. Smith, P. B. English, P. S. Herer et R. N. Gonzalez. 1990. Shedding Pattern of *Staphylococcus aureus* from Bovine Intramammary Infections. *J Dairy Sci* 73:2785-2789.
235. Selander K. Robert, Dominique A. Caugant, Howard Ochman, James M. Musser, Marion N. Gilmour et Thomas S. Whittam. Methods of Multilocus Enzyme Electrophoresis for Bacterial Population Genetics and Systematics. *Applied and Environmental Microbiology.*51, (5):873-884.
236. Shitandi Anakalo , Gathoni Anakolo , Tura Galgo et Milcah Mwangi.2004.Prevalence of bovine mastitis amongst small holder dairy herds in Kenya.*israel journal of veterinary medicine.*
237. Shkreta Lulzim, Brian G. Talbot, Moussa S. Diarra, Pierre Lacasse.2004. Immune responses to a DNA/protein vaccination strategy against *Staphylococcus aureus* induced mastitis in dairy cows. *Vaccine.* 23: 114–126.
238. Shkreta, L., B.G. Talbot et P. Lacasse. 2003. Optimization of DNA vaccination immune responses in dairy cows: effect of injection site and the targeting efficacy of antigen-bCTLA-4 complex. *Vaccine.*21 (19-20): p. 2372-82.
239. Siboo R. Ian, Ambrose L. Cheung, Arnold S. Bayer et Paul M. Sullam. Clumping Factor a Mediates Binding of *Staphylococcus aureus* to Human Platelets. *Infection and Immunity.*69(5) :3120–3127.
240. Signas Christer, Giuseppe Raucci, Klas Jonsson, Per-Eric Lindgren, G. M. Anantharamaiah, Magnus Hooks et Martin Lindberg. Nucleotide sequence of the gene for a fibronectin-binding protein from *Staphylococcus aureus*: Use of this peptide sequence in the synthesis of biologically active peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*86:699-703.

241. Smith G.W, R.L. Lyman et K.L. Anderson .2006 Efficacy of vaccination and antimicrobial treatment to eliminate chronic intramammary *Staphylococcus aureus* infections in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc, 228(3): p. 422-5.
242. Smith K. L, J. S. Hogan et W. P. Weiss.1997. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. J ANIM SCI. 75:1659-1665.
243. Smith E. M, L. E. Green, G. F. Medley, H. E. Bird, L. K. Fox, Y. H. Schukken, J. V. Kruze, A. J. Bradley,R. N. Zadoks et C. G. Dowson.2005. Multilocus Sequence Typing of Intercontinental Bovine *Staphylococcus aureus* Isolates. Journal of Clinical microbiology.43 (9):4737–4743.
244. Sol J, O. C. Sampimon et J. J. Snoep.1994. Factors Associated with Treatment of Subclinical with Antibiotics Bacteriological Cure After Dry Cow Staphylococcal Mastitis. J Dairy Sci 77: 75-79.
245. Sol J, O. C. Sampimon, J. J. Snoep et Y. H. Schukken.1997. Factors Associated with Bacteriological Cure during Lactation after Therapy for Subclinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus* .J Dairy Sci 80:2803–2808.
246. Sommerhäuser Jürgen, Bärbel Kloppert, Wilfried Wolter, Michael Zschöck, Axel Sobiraj, Klaus Failing.2003. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. Veterinary Microbiology 96: 91–102.
247. Sompolinsky David, Miriam Cohen et Gideon Ziv.1974.Epidemiological and Biochemical Studies on Thiamine-less Dwarf-Colony Variants of *Staphylococcus aureus* as Etiological Agents of Bovine Mastitis. Iniection and Immunity.9 (2):217-228.
248. Sordelli D. O,F. R. Buzzola, M. I. Gomez, L. Steele-Moore, D. Berg, E. Gentilini, M. catalano, A. J. Reitz, T. Tollersrud, G. Denamiel, P. Jeric et J. C. Lee.2000. Capsule Expression by Bovine Isolates of *Staphylococcus aureus* from Argentina: Genetic and Epidemiologic Analyses. Journal of Clinical Microbiology.38 (2):846–850.
249. Sordillo L. M et S. C. Nickerson. 1989. Pathology of *Staphylococcus aureus* Mastitis during Lactogenesis: Relationships with Bovine Mammary Structure and Function. J Dairy Sci 72:228-240.
250. Sordillo Lorraine M et Katie L. Streicher. Mammary Gland Immunity and Mastitis Susceptibility. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia.7 (2):135-146.
251. Stepan J, R.Pantucek, j .Doskar.Molucular diagnostics of clinically important *Staphylococci*.2004.Folia Microbiol.49 (4):353-386.
252. Strasters K. C et K. C. Winkler.1963. Carbohydrate Metabolism of *Staphylococcus aureus*. J. gen. Microbiol. 33 : 213-229.
253. Suriyaphol Gunnaporn, Meena Sarikaputi, Prapat Suriyaphol.2009. Differential responses of cells from human skin keratinocyte and bovine mammary epithelium to attack by pore-forming *Staphylococcus aureus* α -toxin. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 32 : 491–502.
254. Sutra L et B. Poutrel.1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol.40: 79-89.
255. SVARM 2001. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.P.36.

256. SVARM 2002. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring.P.29.
257. Swinkels J. M, H. Hogeveen et R. N. Zadoks.2005. A Partial Budget Model to Estimate Economic Benefits of Lactational Treatment of Subclinical *Staphylococcus aureus* Mastitis. J. Dairy Sci. 88:4273–4287.
258. Taponen S, A. Jantunen, E. Pyörälä et S. Pyörälä2003. Efficacy of Targeted 5-day Combined Parenteral and Intramammary Treatment of Clinical Mastitis Caused by Penicillin-Susceptible or Penicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*. Acta vet. Scand. 44 : 53-62.
259. Tenhagen B.A, G. Köster, J. Wallmann et W. Heuwieser.2006. Prevalence of Mastitis Pathogens and Their Resistance against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany. J. Dairy Sci. 89:2542–2551.
260. Tenover C. Fred, Robert Arbeit, Gordon Archer, James Biddle, Sean Byrne, Richard Goering, Gary Hancock, G. Ann Hebert, Bertha Hill, Richard Hollis, William R. Jarvis, Barry Kreiswirth, William Eisner, Joel Maslow, Linda K. Mcdougal, J. Michael Miller, Maury Mulligan et Michael A. Pfaller.1994. Comparison of Traditional and Molecular Methods of Typing Isolates of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology.32 (2):407-415.
261. Teuber M. 1999. Spread of antibiotic resistance with food-borne pathogens. CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 56 : 755–763.
262. Thakker Manoj, Jin-Sir Park, Vincent Carey et Jean C. Lee.1998. *Staphylococcus aureus* Serotype 5 Capsular Polysaccharide Is Antiphagocytic and Enhances Bacterial Virulence in a Murine Bacteremia Model. Infection and Immunity. 66(11):5183–5189.
263. Tollersrud T, K. Kenny, A. J. Reitz, JR. et J. C. Lee. Genetic and Serologic Evaluation of Capsule Production by Bovine Mammary Isolates of *Staphylococcus aureus* and Other *Staphylococcus* spp. from Europe and the United States. Journal of Clinical Microbiology. 38(8) :2998–3003.
264. Trinidad P, S. C. Nickerson et D. G. Luther.1990a. Antimicrobial Susceptibilities of Staphylococcal Species Isolated from Mammary Glands of Unbred and Primigravid Dairy Heifers. J Dairy Sci 73:357-362.
265. Trinidad P, S. C. Nickerson et T. K. Alley.1990 b. Prevalence of Intramammary Infection and Teat canal Colonization in Unbred and Primigravid Dairy Heifers. J Dairy Sci 73:107-114.
266. Tuscherr Lorena P. N, Fernanda R. Buzzola, Lucia P. Alvarez, Roberto L. Caccuri, Jean C. Lee et Daniel O. Sordelli.2005. Capsule-Negative *Staphylococcus aureus* Induces Chronic Experimental Mastitis in Mice. Infection and Immunity.73 (12). p. 7932–7937.
267. Tucker A. Karen, Sheila S. Reilly, Christopher S. Leslie, Michael C. Hudson.2000. Intracellular *Staphylococcus aureus* induces apoptosis in mouse osteoblasts. FEMS Microbiology Letters 186: 151 - 156.
268. Turner Katherine M.E, Edward J. Feil .2007. The secret life of the multilocus sequence type. International Journal of Antimicrobial Agents 29 : 129–135.

269. Úbeda Carles, M. Ángeles Tormo, Carme Cucarella, Pilar Trotonda, Timothy J. Foster, Íñigo Lasa Et José R. enadés.2003. Sip, an integrase protein with excision, circularization and integration activities, defines a new family of mobile *Staphylococcus aureus* pathogenicity islands. *Molecular Microbiology*. 49 (1), 193–210.
270. Willem Van Leeuwen, Henri Verbrugh, Jos Van Der Velden, Nan Van Leeuwen, Max Heck et Alex Van Belkum.1999. *Journal of Clinical Microbiology*.37 (3):664–674.
271. Willem Van Leeuwen, Marly Sijmons, Jacqueline Sluijs, Henri Verbrugh et Alex Van Belkum.1996. On the Nature and Use of Randomly Amplified DNA from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*.34(11) :2770–2777.
272. Varatanović N, M. Podžo, T. Mutevelić, K. Podžo, B. Čengić, A. Hodžić, E. Hodžić.2010. Use of California mastitis test, somatic cells count and bacteriological findings in diagnostics of subclinical mastitis. *Biotechnology in Animal Husbandry* 26 (1-2): p 65-74.
273. Vasudevan Pradeep, Manoj Kumar Mohan Nair, Thirunavukkarasu Annamalai, Kumar S. Venkitanarayanan. 2003. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Veterinary Microbiology* 92: 179–185.
274. Vintov Jan, Frank Møller Aarestrup, Christina Elsberg Zinn, John Elmerdahl Olsen.2003. Phage types and antimicrobial resistance among Danish bovine *Staphylococcus aureus* isolates since the 1950s. *Veterinary Microbiology* 97 : 63–72.
275. Voyich M. Jovanka, Kevin R. Braughton, Daniel E. Sturdevant, Adeline R. Whitney, Battouli Saïd-Salim, Stephen F. Porcella, R. Daniel Long, David W. Dorward, Donald J. Gardner, Barry N. Kreiswirth, James M. Musser and Frank R. DeLeo.2005. Insights into Mechanisms Used by *Staphylococcus aureus* to Avoid Destruction by Human Neutrophils. *J Immunol*. 175 : 3907-3919.
276. Waage S., T. Mørk, A. Røros, D. Aasland, A. Hunshamar et S. A. Ødegaard.1999. Bacteria Associated with Clinical Mastitis in Dairy Heifers. *J Dairy Sci* 82:712–719.
277. Waage S, J. Bjorland, D. A. Caugant, H. Oppegaard, T. Tollersrud, T. Mérik et F.M. Aarestrup.2002. Spread of *Staphylococcus aureus* resistant to penicillin and tetracycline within and between dairy herds. *Epidemiol. Infect.* 129:193 – 202.
278. Wagter L. C., B. A. Mallard, B. N. Wilkie, K. E. Leslie, P. J. Boettcher et J.C.M.Dekkers.2000. A Quantitative Approach to Classifying Holstein Cows Based on Antibody Responsiveness and Its Relationship to Peripartum Mastitis Occurrence. *J Dairy Sci* 83:488–498.
279. Watson, D.L., Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in dairy heifers. *Res Vet Sci*, 1992. 53(3): p. 346-53.
280. Watts Jeffrey L et Sarah A. Salmon.1997. Activity of Selected Antimicrobial Agents against Strains of *Staphylococcus aureus* isolated from Bovine Intramammary Infections that Produce b-Lactamase. *J Dairy Sci* 80:788–791.
281. Weary D. M et I. Tazskun.2000. Hock Lesions and Free-Stall Design .*J Dairy Sci* 83:697–702.

282. Weidenmaier Christopher , John F Kokai-Kun, Sascha A Kristian , Tanya Chanturiya, Hubert Kalbacher, Matthias Gross, Graeme Nicholson, Birgid Neumeister, James J Mond et Andreas Peschel.2004. Role of teichoic acids in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. *Nature Medicine* .10(3): 243-245.
283. Weller T.M.A.2000. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be the international standard? *Journal of Hospital Infection*. 44: 160–172.
284. Wesson A. Carla, James Deringer, Linda E. Liou, Kenneth W. Bayles, Gregory A. Bohach and William R. Trumble.2000.Apoptosis Induced by *Staphylococcus aureus* in Epithelial Cells Utilizes a Mechanism Involving Caspases 8 and 3. *Infection and Immunity*. 68(5):2998–3001.
285. Yancey, R.J., Jr., Vaccines and diagnostic methods for bovine mastitis: fact and fiction. *Adv Vet Med*, 1999. 41:257-73.
286. Yazdankhah, S. P., H. Sørum et H. Oppegaard. 2000. Comparison of genes involved in penicillin resistance in staphylococci of bovine origin. *Microb. Drug Resist.* 6:29-36.
287. Zadoks Ruth, Willem Van Leeuwen, Herman Barkema, Otlis Sampimon, Henri Verbrugh, Ynte Hein Schukken et Alex Van Belkum.2000. Application of Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Binary Typing as Tools in Veterinary Clinical Microbiology and Molecular Epidemiologic Analysis of Bovine and Human *Staphylococcus aureus* Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*.38 (5):1931–1939.
288. Zadoks R. N. , H. G. Allore, T. J. Hagenaars, H. W. Barkema, Y. H. Schukken.2002 a . A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds.p.72-104.
289. Zadoks R. N, W. B. van Leeuwen, D. Kreft, L. K. Fox, H. W. Barkema, Y. H. Schukken and A. van Belkum.2002 b. Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine and Human Skin, Milking Equipment, and Bovine Milk by Phage Typing, Pulsed-Field Gel Electrophoresis, and Binary Typing. *J. Clin. Microbiol.* 40(11):3894–3902.
290. Zadoks R. N, H. G. Allore, H. W. Barkema, O. C. Sampimon, G. J. Wellenberg, Y. T. Gröhn et Y. H. Schukken. 2001. Cow- and Quarter-Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.* 84:2649–2663.
291. Zapun André, Carlos Contreras-Martel et Thierry Vernet.2008. Penicillin-binding proteins and β -lactamresistance. *FEMS Microbiol Rev* 32: 361–385.
292. Zecconi, A.2010. *Staphylococcus Aureus* Mastitis: What We Need To Know To Control Them. *Israel journal of Veterinary medicine*.65 (3):92-123.
293. Zecconi A, R. Piccinini, A. Zepponi et G. Ruffo.1997. Recovery of *Staphylococcus aureus* from Centrifuged Quarter Milk Samples. *J Dairy Sci* 80:3058–3063.
294. Zecconi Alfonso, Lorenza Cesaris, Emmanouil Liandris, Valentina Dapra, Renata Piccinini.2006. Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microbial Pathogenesis*. 40: 177–183.
295. Zecconi Alfonso, Renata Piccinini, Larry K. Fox. Epidemiologic study of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* during a control program in nine commercial dairy herds. *JAVMA*, Vol 223, No. 5. p.684-688.

296. Zhang, S., J. J. Iandolo et G. C. Stewart. 1998. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (sej). FEMS Microbiol.Lett. 168:227-233.

ANNEXES

Annexe I



**Susceptibilité antimicrobienne et production de beta-lactamase
de souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les cas de mammite cliniques et subcliniques.**

**Protocole d'investigation sur la santé de la glande mammaire
Enquête auprès d'éleveurs dont les troupeaux ont été inclus dans le cadre de la réalisation de cette
étude**

Enquête N° :

Date :

Nom de l'éleveur:

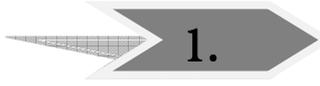
Adresse:

Code Postal :

Nombre de vaches en production :

Race :

Niveau de production moyen par vache (L) :



Étude des procédures effectuées durant la traite :

1-1 Systeme de traite :

- Traite manuelle
- Pots trayeurs
- Salle de traite
- Lactoduc

1-2 Préparation des vaches :

Les trayeurs nettoient ils leurs mains ou leurs gants avant la traite ?

- Oui à chaque fois
- Oui parfois
- Non

Les trayeurs portent des gants durant la traite. Oui Non

Tous les trayons sont nettoyés avant la traite. Oui Non

Méthode de nettoyage :

- Essuyage à sec
- Avec bain de trayon prétraite
- À l'eau
- Eau avec désinfectant
- lavettes
- Autre :

L'eau utilisée est gardée propre et chaude. Oui Non

→ Utilisation d'un bain de trayon prétraite

Méthode d'application :

- Trempage
- Pulvérisation
- Mousse

→ Utilisation des lavettes :

Produit utilisé :

Combien de lavettes utilisez-vous par vache ?

- Une lavette par vache
- Une lavette pour plusieurs vaches
- Utilisation de serviettes jetables en papier
- Utilisation de serviettes réutilisables en tissu
- Utilisation d'une même serviette pour nettoyer les trayons de différentes vaches lors d'une même traite.

Une fois le nettoyage achevez ; essuyez-vous les trayons ? Oui Non

Vous nettoyez les serviettes réutilisables en tissu ou lavettes :

- Entre chaque traite
- Une fois par jour
- Autre :

Décrivez votre méthode de nettoyage des serviettes réutilisables en tissu ou lavettes :

Vos vaches sont traite combien de temps après la préparation de la mamelle ?

- 30 secondes
- 01 à 02 minutes
- Pas immédiatement >03 minutes

1-3 Techniques de traite :

Le temps moyen de traite par vache :

Massage du pis pour égoutter les vaches

Oui

Non

Manipulation de la griffe pour égoutter les vaches

Oui

Non

Utilisation d'un bain de trayon post-traite

Oui

Non

→ Détection des mammites lors de la traite :

Les premiers jets sont tirés sur chaque vache.

Oui

Non

Dans une tasse filtre

Sur le plancher sous les vaches

Sur les mains des trayeurs

Palpation des quartiers et des trayons avant la traite pour détecter une chaleur anormale

Oui

Non

Palpation des quartiers en fin de traite pour détecter la présence de nodules

Oui

Non

→ Gestion des animaux atteints de mammites lors de la traite :

Identifications des vaches sous traitement ?

Oui

Non

Isolées des autres vaches

A l'aide du numéro d'identification

Identification visuelle

Trayez-vous les vaches qui ont une mammite clinique en dernier ou sur un circuit de traite spécifique?

Oui

Non

Trayez-vous les vaches qui ont une infection chronique en dernier ou avec une unité de traite spécifique?

Oui

Non



Traitement et surveillance :

2-1 Traitements des vaches en lactation :

Nombre de vaches ayant présentées une mammite clinique durant :

Le dernier mois
La dernière année

Quel produit utilisez-vous en première intention pour le traitement d'une mammite?

- Un antibiotique
- Préparation homéopathique
- Préparation phytothérapique
- Autre

Fréquence de traitement d'un quartier atteint d'une mammite
Nombre de jour de traitement d'un quartier atteint d'une mammite

Désinfection du bout du trayon avant infusion d'antibiotique Oui Non
Application d'un bain de trayon après l'infusion d'antibiotiques? Oui Non

2-2 Le tarissement :

Description de la méthode de tarissement :

Conduite alimentaire :

- Arrêt de la traite :
- Brutal
 - Par traite intermittente

Isolement des vaches tarées du reste des femelles en lactation ? Oui Non

- Traitement des vaches avec des antibiotiques au moment du tarissement
- Oui, de façon systématique
 - Oui, de façon ciblé (CMT positif, CCI élevé, mammite clinique)
 - Non

2-3 Surveillance de la santé du pis :

Utilisez-vous le test CMT (*California Mastitis Test*) de façon régulière afin de détecter la mammite sub-clinique? Oui Non

Prélevez-vous des échantillons de lait pour culture bactériologique sur : Oui Non

- Les vaches positives au CMT
- Les vaches dépassant un seuil limite de CCS



Étude de l'environnement

Évaluation des conditions de logement

Type de stabulation :

- Libre
- Entravée

Dimensions :

Stabulation à aire paillée : m²

Stabulation : entravée

à logettes :

Nombre de logettes pour la stabulation à logettes :

Longueur :

Largeur :

Type de revêtement :

Litière : Paille Copeaux de bois Sable

Paillage :

Fréquence de paillage :

- 1-hiver : 1 fois 2 fois autres
2-Eté : 1 fois 2 fois autres

Nettoyage :

Fréquences des raclages en stabulation :

Hiver :

Eté :

Rythme d'évacuation du fumier :

Hiver :

Eté :

Fréquence de désinfection du bâtiment :

- Une fois par an
- Plus d'une fois par an
- Aucune désinfection



Annexe 2

Susceptibilité antimicrobienne et production de beta-lactamase
des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les cas de mammites cliniques et subcliniques.

Investigation d'un cas de mammite clinique

Nom de l'éleveur :		Vétérinaire traitant :			
Adresse :					
Numéro d'identification de l'animal :		stade de lactation :			
La race :		numéro de lactation :		production journalière (L) :	
Quartier (s) atteint	Av-D	Av-G	Ar-D	Ar-G	(s) :

	Etat générale de la vache	La mamelle	Température rectale (°C)	Le lait	Pathologie intercurrente :
Le jour du prélèvement	- Alimentation : <input type="checkbox"/> normale <input type="checkbox"/> diminuée	- Couleur : <input type="checkbox"/> Rosée <input type="checkbox"/> Rouge <input type="checkbox"/> Violacée		- Sécrétion lactée : <input type="checkbox"/> Maintenue <input type="checkbox"/> Diminuée <input type="checkbox"/> Suspendue	
	- Rumination : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> non	- Douleur : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non		- Aspect du lait <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Séreux <input type="checkbox"/> Grumeaux <input type="checkbox"/> Pus	
	- Animal couché <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	- Volume : <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Enflé <input type="checkbox"/> Très enflé		- Couleur <input type="checkbox"/> Blanc / jaunâtre <input type="checkbox"/> Bleue / vert <input type="checkbox"/> Noir / rouge	
		- Lésions : <input type="checkbox"/> Plais <input type="checkbox"/> Nodules <input type="checkbox"/> Autres :			

Traitement local :date :

Traitement général :date :

Annexe 3 : Appréciation de la propreté des vaches

Elevage 1 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 17 79 08008	0,5	0,5	1
34 17 79 01002	0,5	1	1,5
34 17 79 07002	0	0,5	0,5
34 17 79 08002	0	0,5	0,5
34 17 79 07004	0,5	1	1,5
34 17 79 07006	1	1,5	2,5
34 17 79 05002	1	1,5	2,5
FR 34 32 45 1236	0,5	1,5	2
34 17 79 09002	0,5	1	1,5
34 17 79 07008	1	1,5	2,5
34 17 79 06002	0,5	0,5	1
34 17 79 07010	0,5	1	1,5
34 17 79 06004	0	1	1
Moyenne			1.5

Elevage 2 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 02 532 04002	0,5	1	1,5
34 02 532 06002	1	1,5	2,5
34 02 532 08002	1,5	1,5	3
34 02 532 06004	1,5	1	2,5
34 10 31 06004	0,5	0,5	1
34 02 532 03002	0,5	1	1,5
34 02 532 07002	0,5	1	1,5
34 02 532 05002	0,5	1	1,5
34 02 532 05004	0,5	1,5	2
34 02 532 08004	1,5	1,5	3
34 02 532 09002	0,5	1	1,5
Moyenne			1.95

Elevage 3 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 02 40 07014	1	2	3
34 02 40 05002	1	2	3
FR 39 10 10 0628	1	1,5	2,5
FR 39 20 70 5753	0,5	1,5	2
FR 39 37 76 0570	1	1,5	2,5
FR 39 10 08 0609	2	2	4
FR 25 20 83 6017	0,5	0,5	1
34 02 40 07006	0	1,5	1,5
FR 90 21 08 2470	0	0,5	0,5
FR 90 21 48 3992	1	2	3
FR 25 42 46 3365	0	0	0
34 02 40 06002	0,5	1,5	2
FR 25 34 55 1560	1	1,5	2,5
FR 39 30 32 0502	0	1	1
34 02 40 07008	0,5	2	2,5
34 02 40 07002	1	1	2
34 02 40 07016	1	2	3
FR 39 17 97 3110	2	2	4
AT 01 82 13 616	2	2	4
34 02 115 09002	0,5	0,5	1
34 28 553 06002	2	2	4
34 02 115 07002	0,5	1,5	2
34 02 01 04002	1	1	2
FR 15 68 29 1702	0,5	0,5	1
34 02 01 09004	1	1,5	2,5
AT 24 72 25 714	0	1	1
		Moyenne	2.21

Elevage 4 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 02 118 08002	2	2	4
AT 17 82 82 816	1	1	2
AT 33 99 36 216	1	1	2
FR 25 30 82 2375	0	1	1
34 02 118 01002	0	0,5	0,5
34 02 118 05006	1,5	1,5	3
34 17 460 02004	1,5	2	3,5
34 02 118 03002	1,5	2	3,5
34 02 118 03004	1,5	2	3,5
34 02 118 07002	1	1	2
Moyenne			2.5

Elevage 5 :

N° d'identification de l'animal			Total
FR 39 25 53 0652	2	2	4
FR 71 2006 7073	1	1,5	2,5
FR 39 32 89 0535	1	1,5	2,5
FR 71 2006 7038	1	1	2
FR 71 2006 7037	1,5	1,5	3
FR 39 21 79 0262	1	1	2
FR 71 2006 7078	0,5	1	1,5
FR 39 32 29 0435	0,5	0,5	1
FR 39 32 29 0454	1	1,5	2,5
Moyenne			2.33

Elevage 6 :

N° d'identification de l'animal			Total
FR 25 45 39 0332	1	1	2
FR 39 14 261 1207	1,5	2	3,5
FR 70 32 221 6210	1,5	1,5	3
FR 01 03 02 6946	0,5	0,5	1
FR 25 25 90 0183	0,5	0,5	1
FR 25 32 61 5433	1	1	2
FR 01 08 02 8935	0,5	1	1,5
FR 25 46 33 1736	1	1	2
FR 25 50 99 3286	0	0	0
FR 25 44 42 3182	0,5	0,5	1
FR 01 08 02 8924	1,5	2	3,5
FR 39 27 07 0798	1,5	2	3,5
FR 70 45 30 5142	0,5	0,5	1
FR 25 35 65 2129	1,5	1,5	3
FR 01 03 02 4415	1	0,5	1,5
FR 25 45 66 4516	1	0,5	1,5
FR 25 29 30 0018	1	1,5	2,5
FR 25 44 84 5243	1	1,5	2,5
FR 25 41 88 3355	1	0,5	1,5
		Moyenne	1.97

Elevage 7 :

N° d'identification de l'animal			Total
AT 66 74 14 314	1,5	2	3,5
DE 01 162 24 925	1,5	1,5	3
AT 92 10 30 714	1,5	2	3,5
DE 09 408 36 745	1	1,5	2,5
34 02 16 08002	1	1,5	2,5
		Moyenne	3

Elevage 8 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 02 19 08008	2	2	4
34 02 19 07002	0	2	2
34 02 19 06004	0	1,5	1,5
34 02 19 01004	1,5	1,5	3
34 02 19 01002	0	2	2
34 02 19 04002	1,5	1,5	3
34 02 19 08004	1	1,5	2,5
DE 03 517 72 046	0	1,5	1,5
34 02 19 02002	1	1,5	2,5
		Moyenne	2.44

Elevage 9 :

N° d'identification de l'animal			Total
34 02 1132 08002	0,5	1	1,5
34 02 1132 07002	0	1	1
FR 39 20 14 0511	0	0,5	0,5
34 02 1132 06002	0	0,5	0,5
34 02 1132 05002	0,5	2	2,5
34 02 1132 05004	1	2	3
34 02 1132 09004	0	1	1
AT 06 42 23 416	1	1,5	2,5
		Moyenne	1.56

Elevage 10 :

N° d'identification de l'animal			Total
AT 28 55 00 816	0	0,5	0,5
AT 72 54 26 316	1,5	0,5	2
AT 92 86 25 314	0,5	1	1,5
AT 33 86 29 716	0,5	1	1,5
AT 20 32 90 216	0,5	1,5	2
AT 33 52 82 216	0,5	1	1,5
AT 04 88 74 916	0,5	0,5	1
AT 19 21 03 916	0,5	1,5	2
		Moyenne	1.5

Elevage 11 :

N° d'identification de l'animal			Total
AT 54 16 51 609	0,5	1,5	2
AT 06 12 86 517	0,5	1,5	2
AT 06 18 13 317	1	1,5	2,5
AT 58 96 23 316	0,5	1	1,5
AT 2006 71 717	1	1,5	2,5
AT 93 54 54 114	0,5	1,5	2
AT 13 62 41 17	0,5	1,5	2
AT 80 98 32 416	0,5	0,5	1
AT 28 67 618 17	0,5	1,5	2
AT 21 53 37 316	0,5	0,5	1
AT 96 31 71 916	1	1,5	2,5
		Moyenne	1.9

Elevage 12 :

N° d'identification de l'animal			Total
DE 08 135 53 237	1,5	1,5	3
DE 08 134 08 274	2	2	4
34 26 67 06004	1	1	2
34 26 67 07006	2	2	4
DE 07 691 00 300	1,5	1,5	3
34 26 67 07002	1	1	2
DE 08 136 216 17	0,5	0,5	1
FR 27 12 89 6921	1,5	1,5	3
34 26 67 05002	0,5	0	0,5
DE 06 629 57 191	1,5	1,5	3
DE 08 135 62 032	1	0	1
34 26 67 05004	1,5	1,5	3
34 26 67 03002	1,5	1,5	3
FR 39 26 04 1273	0,5	0,5	1
34 26 67 06002	1,5	1,5	3
		Moyenne	2.4

(++)	1			1						
(+++)	5		1	3					1	
	élevage 8									
±	8	2	2	1		1	1		1	
(+)	1		1							
(++)	9	1	1	3		1	2		1	
(+++)	2					2				
	élevage 9									
±	2		1			1				
(+)	7	1	5	1						
(++)	7	1	2				3		1	
(+++)	4		1	1			2			
	élevage 10									
±	4		2	1					1	
(+)	5	1	2				1		1	
(++)	3			2	1					
(+++)	2	1	1							
	élevage 11									
±	5	1	1					3		
(+)	3	1						1	1	
(++)	5		2		1			2		
(+++)	1								1	
	élevage 12									
±	1	1								
(+)	17	8	1			6	1	1		
(++)	7			2		5				
(+++)	2					2				
Total	334	53	85	49	4	46	39	20	30	8

Annexe 6 : distribution des profils biochimiques et de résistance des 54 souches de *S.aureus* isolées des cas de mammites cliniques et subcliniques dans la région de B.B.Arreridj

élevage	Nombre d'isolats	Profils Biochimiques	Profils de Résistance
1	1	6716153	G
	1	6716151	A
	2	6716153	A
	1	6716151	G
	1	6736153	C
	1	6716153	F
2	1	6716151	G
	1	6716153	G
	1	6736152	A
	1	6716151	B
3	3	6736153	G
	1	6736153	A
	2	6716153	B
4	1	6716151	C
	3	6736152	A
	1	6736153	G
	1	6736152	C
	1	6736153	B
5	3	6736153	G
	2	6736152	G
	1	6736153	F
	1	6716153	F
6	1	6736153	E
	1	6736153	A
	1	6736153	B
	1	6736152	C
7	1	6716153	C
	3	6736153	G
8	2	6736153	C
	1	6736152	C
	1	6736152	G
9	1	6736153	C
	1	6736153	A
10	1	6736152	A
	3	6736152	C
12	1	6736153	A
	1	6716153	A

FR 25 46 70 1533	1	6736153	C
34 02 979 09002	1	6736152	C
34 17 180 07002	1	6736152	D

Résumé

La production de β -lactamase et la susceptibilité in vitro à plusieurs agents antimicrobiens ont été étudiées pour 54 souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans des cas de mammites bovines dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Cinquante sept pour cent (57.41%) des isolats (31/54) étaient β -lactamase positives, le pourcentage de résistance de ces souches à la Pénicilline G, à l'Ampicilline, à l'Oxytétracycline et à l'Erythromycine était respectivement de 100%, 100%, 54.84% et 12.9%. Les isolats β -lactamase négatifs étaient tous sensibles à la Pénicilline G et à l'Ampicilline et seulement 26.09% (6/23) et 4.35% (1/23) étaient résistants respectivement à l'Oxytétracycline et à l'Erythromycine. Par contre aucune résistance n'a été observée contre l'Amoxicilline plus Acide Clavulanique et la Triméthoprime-Sulfaméthoxazole pour les souches productrices ou pas de β -lactamase. Les concentrations minimales inhibitrices moyennes de la Pénicilline G, d'Ampicilline, d'Amoxicilline plus Acide Clavulanique mesurées par la méthode E-test qui inhibaient 50 % et 90 % des isolats étaient respectivement de : 0.25 ; 0.75 ; 0.38 et 1 ; 1 ; 0.75 μ g/ml pour les souches β -lactamase positives et de 0.023 ; 0.047 ; 0.094 et 0.064 ; 0.094 ; 0.125 μ g/ml pour les souches β -lactamase négatives. Il a été conclu qu'il y avait bonne concordance entre la résistance à la Pénicilline G et à l'Ampicilline et la production de β -lactamase par le *S.aureus*. Par conséquent, l'analyse du statut de production de β -lactamase par le test à la nitrocéfine de quelques souches de *S. aureus* par troupeau à des intervalles de temps réguliers apparaît comme un outil fiable, rapide et économique pour identifier les élevages dans lesquels la Pénicilline G, très active également contre les Streptocoques, est un antibiotique de choix pour le traitement des mammites.

Mots clés : Mammite, Beta-lactamase, *Staphylococcus aureus*, susceptibilité antimicrobienne

Summary

A total of 54 strains of *Staphylococcus aureus* were investigated for their β -lactamase production and susceptibility to several antimicrobial agents. Strains were isolated from bovine mastitis cases in the departement of bordj bou arreridj. β -Lactamase production was detected in 31 of these isolates (57.41%). the percentage of resistance of these strains to Penicillin G, Ampicillin, Oxytetracycline and Erythromycin were respectively 100%, 100%, 54.84% and 12.9%. The β -lactamase negative isolates were sensitive to Penicillin G and Ampicillin and only 26,09% (6/23) and 4,35% (1/23) were resistant to Oxytetracycline and Erythromycin respectively. No resistance to Amoxicillin plus Clavulanic acid and Trimethoprim-Sulfamethoxazole was observed. The minimum inhibitory concentrations of Penicillin G, Ampicillin, Amoxicillin plus Clavulanic acid that inhibit 50% and 90% of isolates were respectively: 0,25, 0,75, 0,38, 1, 1, 0,75 μ g/ml for β -lactamase positive strains and 0,023, 0,047, 0,094 and 0,064, 0,094, 0,125 μ g/ml for β -lactamase negative strains.

It was concluded that there was good correlation between resistance to Penicillin G and Ampicillin and the beta-lactamase production by *S. aureus*. Therefore, the analysis of β -lactamase production status of *S. aureus* strains from mastitis cases at regular time intervals appears as a reliable, fast and economical method to identify farms in which penicillin G, also very active against *Streptococci*, is an antibiotic of choice for the treatment of mastitis.

KEY-WORDS: Mastitis, Beta-lactamase, *Staphylococcus aureus*, antibiotic susceptibility.

المخلص

لقد تمت دراسة انتاج البيتا لاكتاماز و الحساسية تجاه عدة عوامل مضادة للجراثيم لمجموعة من 54 عزلة من المكورات العنقودية الذهبية التي تم عزلها من حالات لانتهاج الضرع البقري في ولاية برج بوعريبيج . تم كشف انتاج البيتا لاكتاماز في 31 من هذه العزلات (57.41٪) وكانت النسبة المئوية لمقاومة هذه السلالات ل: البنسلين، أمبيسلين، أكسيبتتراسكلين والاريثروميسين على التوالي 100٪ ، 100٪ ، 54.84٪ و 12.9٪ . كانت العزلات السلبية للبيتا لاكتاماز حساسة للبنسلين والأمبيسلين فقط 26,09٪ (6/23) و 4,35٪ (23/1) كانت مقاومة للأكسيبتتراسكلين والاريثروميسين على التوالي . لم يلاحظ أي مقاومة للأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك و ترميثوبريم سلفاميثوكسازول.

كانت التركيزات الأدنى المثبتة للبنسلين، أمبيسلين، أموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك التي تقضي على 50٪ و 90٪ على التوالي من العزلات: 0,25، 0,75، 0,38 و 1، 1، 0,75 مغ/مل بالنسبة للسلالات ايجابية البيتا لاكتاماز و 0,023، 0,047، 0,094، 0,064 و 0,094، 0,125، 0,094 مغ/مل بالنسبة للسلالات سلبية البيتا لاكتاماز. تم التوصل إلى أنه كانت هناك علاقة جيدة بين مقاومة البنسلين والأمبيسلين وإنتاج البيتا لاكتاماز بواسطة بكتريا المكورة العنقودية ولذلك فإن تحليل حالة انتاج البيتا لاكتاماز من سلالات المكورات من حالات انتهاج الضرع على فترات زمنية منتظمة يبدو كطريقة موثوقة وسريعة واقتصادية لتحديد المزارع حيث البنسلين المعروفة أيضا بنشاطها ضد العقديات هو مضاد حيوي يحظى بأولوية الاستعمال لعلاج التهاب الضرع.

الكلمات المفتاحية : التهاب الضرع ، البيتا لاكتاماز ، الحساسية للمضادات الحيوية .

